

Analytik von Alkylphenoethoxylaten in Pflanzenschutzmitteln und anderen Matrices

Dem Fachbereich Chemie
der Universität Duisburg-Essen

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

eingereichte Dissertation

von
Stefan Meisen

aus
Krefeld

- 1. Gutachter: **Prof. Dr. Karl Molt**
- 2. Gutachterin: **PD Dr. Ursula Telgheder**
- Tag der Einreichung: **13. August 2008**
- Tag der mündlichen Prüfung: **19. September 2008**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von März 2003 bis Mai 2008 im Fachbereich Chemie der Universität Duisburg-Essen im Fachgebiet Instrumentelle Analytische Chemie zunächst unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Klaus Günther und dann später unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Karl Molt angefertigt.

Non quia difficilia sunt non audemus,
sed quia non audemus difficilia sunt.

Lucius Annaeus Seneca

Z lásky k Pavlíně.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Klaus Günther für das interessante Thema und die damit verbundene anspruchsvolle Aufgabenstellung. Ich danke ihm insbesondere für das mir entgegengebrachte Vertrauen, die daraus resultierend gewährten Freiheiten bei der Durchführung meiner Arbeit und die gute Zusammenarbeit während seiner Zeit in Duisburg.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Karl Molt für die Übernahme des Erstgutachtens, nachdem Herr Prof. Dr. Klaus Günther die Universität Duisburg-Essen verlassen hatte. Ich danke Ihm ebenfalls für die gute Zusammenarbeit.

Mein tiefer Dank gilt Frau PD Dr. Ursula Telgheder, die nach der Erkrankung von Prof. Dr. Klaus Günther spontan das Zweitgutachten übernommen hat. Vor allem aber danke ich ihr für die stete Unterstützung in allen Fragen und die seit meiner Diplomarbeit andauernde fruchtbare und freundschaftliche Zusammenarbeit.

Für das Gelingen meiner praktischen Arbeit danke ich Holger Lutze und Karsten Nödler für ihre wertvollen Beiträge zu den SPE-Experimenten, Benjamin Bomastyk und Elisabeth Janssen für ihren Anteil an den UV- und Fluoreszenzmessungen sowie Feng Wang und Dr. Bernd Wermeckes für die Unterstützung bei den Analysen mittels MALDI-TOFMS. Ferner danke ich Frau Renate Brülls, ohne die die Elementaranalysen nicht möglich gewesen wären. Insbesondere danke ich Herrn Prof. Dr. Torsten C. Schmidt, der mir es ermöglicht hat, meine Experimente an der Universität Duisburg-Essen beenden zu können.

Ich danke Herrn Prof. Ing. Karol Flórián DrSc. und Herrn Prof. Dr. Heinz-Martin Kuß, die mir zweimal Forschungsaufenthalte in der Slowakei an der Technischen Universität Košice ermöglicht haben. Für die finanzielle Unterstützung in dieser Zeit mit Hilfe von Stipendien danke ich dem Deutschen Akademischen Austausch Dienst und der Slovenská akademická informačná agentúra. Stellvertretend für die gesamte Abteilung Chemie der Hüttenfakultät an der Technischen Universität Košice möchte ich Herrn Prof. Ing. Karol Flórián DrSc. herzlich danken für die unvergessene Zeit in Košice, die zu den prägendsten in meinem Leben gehörte.

Für das Gelingen meiner Arbeit war sehr entscheidend, dass ich neben der vielfältigen Unterstützung durch alle Mitarbeiter der Instrumentellen Analytischen Chemie im Fachbereich Chemie der Universität Duisburg-Essen auch immer von einem sehr guten

und kollegialen Arbeitsklima umgeben war, aus dem in vielen fachlichen Gesprächen gute Ideen und aus dem in den ebenso zahlreichen persönlichen Gesprächen auch enge Freundschaften entstanden sind. Daher wird meine Zeit in Duisburg für mich unvergessen bleiben und ich danke neben den bereits erwähnten Personen ebenfalls sehr herzlich: Dr. Sami Mohammed Abdel Azeem, Dr. Bülend Bayraktar, Dr. Gregor Aschenbroich, Dr. Abdelsalam Ali Asweisi, Nabil Bader, PD Dr. Evelin Denkhaus, Khaled Elsherif, Gerd Fischer, Prof. Dr. Alfred Golloch, Alexandra Jarocki, Dr. Maik Jochmann, Werner Kaiser, Rajab El-Kailany, Matthias Klug, Robert Knierim, Dr. Holger Krohn, Mahbo Nonhlangabezo, Yuan Qian, Dr. Roman Rodriguez, Roswitha Schragmann, Dr. Alfred Schlachter, Dirk Steinmann, Manuel Stephan, Claudia Ullrich und Marco Zedda.

Meinen sehr herzlichen Dank möchte ich an meine ganze Familie richten, insbesondere an meine Eltern, die mich in den ganzen Jahren stets unterstützt haben und ohne die ich mein Ziel nie erreicht hätte.

Abschließend möchte ich meiner geliebten Freundin Pavlína danken, die immer an mich geglaubt hat und mir in der schwierigsten Phase meiner Arbeit mit Ihrer unendlichen Liebe und Geduld die nötige Kraft gegeben hat, stets weiter zu machen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	APEO in ihrer Bedeutung als nichtionische Tenside	4
2.1	Nomenklatur, Struktur und Eigenschaften von APEO	4
2.2	Industrielle Darstellung und Verwendung von APEO	10
2.2.1	Industrielle Darstellung von APEO	11
2.2.2	Verwendung von APEO	17
2.2.2.1	Wasch-, Reinigungs- und Desinfektionsmittel	18
2.2.2.2	Textil- und Lederhilfsmittel	18
2.2.2.3	Hilfsmittel für die Kunststoffindustrie, Farben- und Lack- herstellung	19
2.2.2.4	Hilfsmittel für die Zellstoff- und Papierindustrie	19
2.2.2.5	Schmierstoffe und Öle	20
2.2.2.6	Bauchemikalien	20
2.2.2.7	Agrochemikalien	20
2.2.2.8	Sonstige Anwendungen	20
2.3	APEO als Formulierungshilfsstoffe von Pflanzenschutzmitteln	22
2.3.1	Die Funktion von Formulierungshilfsstoffen in Pflanzenschutzmitteln	22
2.3.2	Die Verwendung von Tensiden in PSM-Formulierungen	24
2.3.2.1	Tenside als Emulgatoren oder Suspensionsmittel	25
2.3.2.2	Tenside als Spreitungsmittel, Netzmittel oder Haftvermittler	27
2.3.2.3	Tenside als Aktivierungsmittel	29
2.4	Umweltverhalten von APEO	31
2.4.1	Emissionsquellen und Emissionswege von APEO	31
2.4.2	Biologischer Abbau von APEO und ihr Verhalten bei der Abwas- serbehandlung	32

2.4.3	Verbreitung von APEO und APEO-Metaboliten in der Umwelt . .	38
2.4.4	Umwelttoxizität von APEO und APEO-Metaboliten	51
3	Methodenüberblick zur Analyse von APEO	55
3.1	Methoden zur Probenvorbereitung	55
3.1.1	Entnahme, Konservierung und Behandlung von Proben	55
3.1.2	Isolierung und Anreicherung von APEO aus flüssigen Matrices . . .	57
3.1.2.1	Flüssig-Flüssig-Extraktion	57
3.1.2.2	Ausblasen mit Stickstoff in Ethylacetat	59
3.1.2.3	Festphasenextraktion	59
3.1.2.4	Festphasenmikroextraktion	63
3.1.2.5	Wasserdampfdestillation/Lösemittlextraktion	63
3.1.3	Isolierung und Anreicherung von APEO aus festen Matrices	64
3.1.3.1	Wasserdampfdestillation/Lösemittlextraktion	65
3.1.3.2	Soxhlet-Extraktion	65
3.1.3.3	Ultraschall-Lösemittlextraktion	65
3.1.3.4	Überkritische Fluidextraktion	66
3.1.3.5	Lösemittlextraktion unter Druck	67
3.1.3.6	Mikrowellenunterstützte Lösemittlextraktion	67
3.1.3.7	Matrix-Festphasen-Dispersion	68
3.1.4	Clean-Up von APEO-Extrakten	68
3.2	Flüssigkeitschromatographie von APEO	70
3.2.1	Flüssigkeitschromatographie mit Normalphasen	70
3.2.2	Flüssigkeitschromatographie mit Umkehrphasen	73
3.2.3	Weitere flüssigkeitschromatographische Methoden	76
3.2.4	Detektoren für die Flüssigkeitschromatographie	77
3.2.4.1	UV-Absorptions- und Fluoreszenzdetektoren	77
3.2.4.2	Massenspektrometrische Detektoren	78
3.2.4.3	Weiter Detektoren	83
3.3	Gasschromatographie von APEO	84
3.3.1	Gaschromatographie ohne Derivatisierung	84
3.3.2	Gaschromatographie mit Derivatisierung	86
3.4	Überkritischer Fluidchromatographie von APEO	87
3.5	Kapillarelektrophorese von APEO	88

3.6	Massenspektrometrie von APEO	89
3.7	Weitere analytische Methoden	91
4	Problemstellung und Ziele der Arbeit	95
5	Methoden und Materialien	98
5.1	Herkunft und Art der untersuchte Proben	98
5.1.1	Pflanzenschutzmittel	98
5.1.2	Synthetische und pflanzliche Öle	98
5.1.3	Geschirrspülmittel und Reinigungsmittel	99
5.1.4	Waschmittel	100
5.2	Verwendete Chemikalien	101
5.2.1	Alkylphenole, Alkylphenoethoxylate und andere Tenside	101
5.2.2	Pestizide	102
5.2.3	Lösemittel	102
5.2.4	Weitere Chemikalien	104
5.2.5	Gase	105
5.3	Verwendete Geräte	105
5.4	Präparative Methoden	107
5.4.1	Allgemeine Bemerkungen	107
5.4.2	Extraktionsmethoden	107
5.4.2.1	Extraktion nach Wickbold	107
5.4.2.2	Festphasenextraktion	109
5.4.2.3	Fest-Flüssig-Extraktion	110
5.4.2.4	Flüssig-Flüssig-Extraktion	111
5.4.3	Isolierung der APEO-Fraktion aus PSM-Formulierungen	111
5.4.4	Isolierung von APEO-Ethoxymeren mittels Adsorptionschromatographie	112
5.4.5	Sonstige präparative Methoden	114
5.4.5.1	Formulierung von Pflanzenschutzmitteln	114
5.4.5.2	Herstellen von Lösungen	115
5.4.5.3	Aufstocken von Pflanzenschutzmitteln und anderen Matrices	116
5.4.5.4	Einengen von Lösemitteln bis zur Trockene	117
5.5	Flüssigkeitschromatographische Methoden	118

5.5.1	Konfiguration der verwendeten HPLC-Systeme	118
5.5.2	Verwendete HPLC-Säulen	118
5.5.3	Kopplung von HPLC-Säulen	119
5.5.4	Isokratische Flüssigkeitschromatographie an Umkehrphasen	122
5.5.4.1	Methode RPLC 1	122
5.5.4.2	Methode RPLC 2	123
5.5.4.3	LC-LC-Kopplung	123
5.5.4.4	Kalibration der RPLC	124
5.5.5	Flüssigkeitschromatographie an Normalphasen mit Gradientenelution	125
5.6	Gaschromatographische Methoden	126
5.6.1	Konfiguration der verwendeten Gaschromatographen	126
5.6.2	Verwendete GC-Säulen	126
5.6.3	Untersuchung der PSM-Formulierungen und APEO mittels GC-MS	126
5.7	Flugzeitmassenspektrometrie	129
5.7.1	Konfiguration des verwendeten Flugzeitmassenspektrometers . . .	129
5.7.2	Durchführung der Analysen mittels MALDI-ToF-MS	130
5.8	UV/VIS-Absorptions- und Fluoreszenzspektrometrie	131
5.8.1	UV/VIS-Absorptionsspektrometrie	131
5.8.2	Fluoreszenzspektrometrie	131
5.9	Elementaranalyse von APEO	132
5.9.1	Grundlage des Verfahrens	132
5.9.2	Durchführung der Elementaranalyse	132
6	Ergebnisse und Diskussion	133
6.1	Extraktionsmethoden	133
6.1.1	Ermittlung des Formulierungstyps anhand von Löslichkeitsversu- chen und Auswahl der Extraktionsmethoden	133
6.1.2	Extraktion nach Wickbold	134
6.1.3	Festphasenextraktion	137
6.1.4	Fest-Flüssig-Extraktion	146
6.1.5	Flüssig-Flüssig-Extraktion	153
6.2	Sonstige präparative Methoden	168
6.2.1	Einengen von Lösemitteln bis zur Trockene	168
6.3	Identifizierung und Charakterisierung von APEO	171

6.3.1	Überprüfen der APEO auf Alkylphenole mittels GC-MS	171
6.3.2	Isolierung und Nachweis einzelner APEO-Ethoxymere	174
6.3.3	Isolierung und Nachweis von APEO in PSM	180
6.3.3.1	Isolierung der APEO-Fraktion aus PSM mittels RPLC . .	180
6.3.3.2	Nachweis von APEO in PSM mittels GC-MS	181
6.3.3.3	Nachweis von APEO in PSM mittels MALDI-ToF-MS . .	183
6.3.3.4	Nachweis der APEO in den Fraktionen mittels NPLC-FLD	187
6.3.4	Bestimmung der Ethoxymerenverteilung mittels NPLC-FLD	189
6.3.4.1	Chromatographische Ethoxymereentrennung von APEO mit- tels Gradientenelution	189
6.3.4.2	Zuordnung der Ethoxymere zu den Peaks in den Chroma- togrammen	195
6.3.4.3	Ermittlung der Ethoxymerenverteilung, der mittleren Mol- massen und der Ethoxylierungsgrade aus den Chromato- grammen	196
6.3.5	Bestimmung der Ethoxymerenverteilung mittels MALDI-ToF-MS .	200
6.3.6	Methodenvergleich zwischen NPLC-FLD und MALDI-ToF-MS . . .	204
6.4	Identifizierung von Pestiziden in den untersuchten PSM-Formulierungen mittels GC-MS	207
6.5	Flüssigkeitschromatographie von APEO an Umkehrphasen	209
6.5.1	Retentionsverhalten von APEO an Umkehrphasen	209
6.5.2	Detektion von APEO	215
6.5.2.1	UV-Absorptionsdetektion	215
6.5.2.2	Fluoreszenzdetektion	221
6.5.3	Selektivität der RPLC	225
6.5.4	LC-LC-Kopplung einer C18- mit einer C8-Phase	232
6.5.5	Quantifizierung von APEO in Lösungen, PSM und anderen Formu- lierungen	240
6.5.5.1	Reinheit der zur Kalibration verwendeten APEO	240
6.5.5.2	Kalibrierstrategie zur Quantifizierung von APEO	243
6.5.5.3	Durchführung der Kalibrationen und Verfahrenskennndaten	248
6.5.5.4	Überprüfung auf Richtigkeit	251
6.6	Überblick und Bewertung der Ergebnisse	254

A	Meßunsicherheit der verwendeten Geräte	263
A.1	Analysenwaage	263
A.2	Kolbenhubpipetten	263
A.3	Vollpipetten	264
A.4	Meßkolben	265
A.5	Schätzung der Meßunsicherheiten	265
	Literaturverzeichnis	267
	Abbildungsverzeichnis	310
	Tabellenverzeichnis	317

Abkürzungsverzeichnis

a	Absorptivität
A_{Peak}	Peakfläche
ABS	Alkylbenzolsulfonate
AEO	Alkoholethoxylate
AP	Alkylphenol
APCI	chemische Ionisation bei Atmosphärendruck
APEC	Alkylphenolethoxycarboxylat
APE_1C	Alkylphenoxyessigsäure
APE_2C	Alkylphenoxyethoxyessigsäure
APEO	Alkylphenolethoxylat
$AP(EO)_n$	Alkylphenolethoxylat, Ethoxymer mit n Oxyethyleneinheiten
AP_nEO	Alkylphenolethoxylat, Ethoxymerengemisch mit im Mittel n Oxyethyleneinheiten
c	Massenkonzentration (in $g \cdot l^{-1}$)
C	Stoffmengenkonzentration (in $mol \cdot l^{-1}$)
c	Massengehalt (in % (w/w))
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CAPEC	Carboxyalkylphenolethoxycarboxylat
CAPEO	Carboxyalkylphenolethoxylat
CI	Chemische Ionisation
CMC	Kritische Mizellbildungskonzentration
DAD	Diodenarraydetektor
DHB	2,4-Dihydroxybenzoesäure
DBS	4-Dodecylbenzolsulfonat
DBSA	4-Dodecylbenzolsulfonsäure
DDPEO	Dodecylphenolethoxylat
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DNPEO	Dinonylphenolethoxylat

d. w.	Trockengewicht (dry weight)
E	Extinktion
EC	Emulgierbares Konzentrat
EI	Elektronenstoßionisation
ELSD	Verdampfungs-Streulichtdetektor
EO	Oxyethyleneinheit ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$)
EW	Konzentrierte Emulsion
ESI	Elektronensprayionisation
f_{c_0/c_W}	Korrekturfaktor ($f_{c_0/c_W} = \frac{c_0}{c_W}$)
FAB	Ionisierung durch Atombeschuss
FID	Flammenionisationsdetektor
FL	Fluoreszenz
FLD	Fluoreszenzdetektor
GC	Gaschromatographie
GFC	Gelfiltrationschromatographie
HLB	Hydrophil/Lipophil-Bilanz
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
i	Laufzahl (z. B. i . Komponente)
j	Laufzahl (z. B. j . Komponente)
k	Konstante
K_{WH}	Verteilungskoeffizienten zwischen einer wässrigen Phase und n -Hexan
L	Zahl
LAS	lineare Alkylbenzolsulfonate
LC	Flüssigkeitschromatographie
LOD	Nachweisgrenze (limit of detection)
LOQ	Bestimmungsgrenze (limit of quantitation)
m	Masse (in g)
M	Molmasse (in $g \cdot \text{mol}^{-1}$)
$M_{hydrophil}$	Molmasse der hydrophilen Fraktion im Tensidmolekül (in $g \cdot \text{mol}^{-1}$)
M_n	Zahlenmittel der Molmasse (in $g \cdot \text{mol}^{-1}$)
M^{MS}	massenspektrale Masse
M_w	Massenmittel der Molmasse (in $g \cdot \text{mol}^{-1}$)
MALDI	matrixunterstützte Laser-Desorption und Ionisation
MS	Massenspektrometrie bzw. Massenspektrometer
n	Stoffmenge (in mol)
N	Zahl

N_A	Avogadro-Konstante ($N_A \approx 6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$)
n_{EO}	Ethoxylierungsgrad, Anzahl der Oxyethylengruppen pro Molekül
\bar{n}_{EO}	mittlerer Ethoxylierungsgrad, mittlere Anzahl der Oxyethylengruppen pro Moleküle für ein polydisperses Ethoxymengemisch
$n_{n,EO}$	Zahlenmittel der Anzahl der Oxyethylengruppen pro Molekül ($n_{n,EO} = \bar{n}_{EO}$)
$n_{w,EO}$	Massenmittel der Anzahl der Oxyethylengruppen pro Molekül
n. d.	nicht detektierbar
NP	Nonylphenol
NPEC	Nonylphenolethoxycarboxylat
NPE ₁ C	Nonylphenoxyessigsäure
NPE ₂ C	Nonylphenoxyethoxyessigsäure
NPEO	Nonylphenolethoxylat
NP(EO) _n	Nonylphenolethoxylat, Ethoxymers mit n Oxyethyleneinheiten
NPLC	Flüssigkeitschromatographie an Normalphasen
NP n EO	Nonylphenolethoxylat, Ethoxymengemisch mit im Mittel n Oxyethyleneinheiten
OP	Octylphenol
OPEC	Octylphenolethoxycarboxylat
OPEO	Octylphenolethoxylat
OP(EO) _n	Octylphenolethoxylat, Ethoxymers mit n Oxyethyleneinheiten
OP n EO	Octylphenolethoxylat, Ethoxymengemisch mit im Mittel n Oxyethyleneinheiten
PDI	Polydispersitätsindex
PEG	Polyethylenglykol
PGC	poröser graphitisierter Kohlenstoff
PO	Oxypropyleneinheit
P'	Polaritätsindex nach L. R. Snyder
PSM	Pflanzenschutzmittel
RIC	Rekonstruiertes Ionenchromatogramm (reconstructed ion chromatogram)
RID	refraktometrischer Detektor
RPLC	Flüssigkeitschromatographie an Umkehrphasen
R_S	Chromatographische Auflösung
s	Standardabweichung
$s_{rel.}$	relative Standardabweichung
SC	Suspensionskonzentrat
SEC	Größenausschlusschromatographie
SG	Wasserlösliches Granulat

SIM	Single ion monitoring
SL	Wasserlösliches Konzentrat
SP	Wasserlösliches Pulver
t_R	Retentionszeit (in <i>min</i>)
TIC	Totalionenstrom (total ion current)
TBPEO	Tri- <i>sec</i> -butylphenolethoxylat
TBP n EO	Tri- <i>sec</i> -butylphenolethoxylat, Ethoxymengengemisch mit im Mittel n Oxyethylen-einheiten
TFA	Trifluoressigsäure
ToF-MS	Flugzeit-Massenspektrometrie
TSPEO	Tristyrylphenolethoxylat (2,4,6-Tri-(1-phenylethyl)phenolethoxylat)
TSP n EO	Tristyrylphenolethoxylat, Ethoxymengengemisch mit im Mittel n Oxyethylen-einheiten
UV	Ultraviolett
UVD	Ultraviolettabsorptionsdetektor
V	Volumen
VB	Vertrauensbereich
VWD	variabler Wellenlängendetektor
v/v	Volumenanteil (in %)
w	Massenanteil
WG	Wasserdispergierbares Granulat
WP	Wasserverdünnbares Pulver
w.w.	Feuchtgewicht (wet weight)
w/w	Massenanteil (in %)
x	Stoffmengenanteil
ε	mittlerer, molarer Absorptionskoeffizienten (in $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
λ	Wellenlänge (in <i>nm</i>)
λ_{em}	Emissionswellenlänge
λ_{ex}	Anregungswellenlänge

Kapitel 1

Einleitung

Die Anzahl anthropogener Stoffe, die durch den menschlichen Gebrauch in die Umwelt gelangen, steigt weltweit weiter an. Dabei können Risiken für die Umwelt und den Menschen nicht nur von einem unsachgemäßen Gebrauch sondern auch durch eine sachgemäße Anwendung dieser Stoffe ausgehen. Entscheidend hierfür ist das Umweltverhalten der in die Biosphäre gelangenden Substanzen, wie z. B. deren Toxizität, Abbauverhalten, Persistenz oder Akkumulationsneigung. Für eine sinnvolle Risikoabschätzung solcher Stoffe sind zuverlässige analytische Methoden bei der Ermittlung von Emissionsquellen und Emissionswegen sowie von Metabolisierungsprozessen von großer Bedeutung.

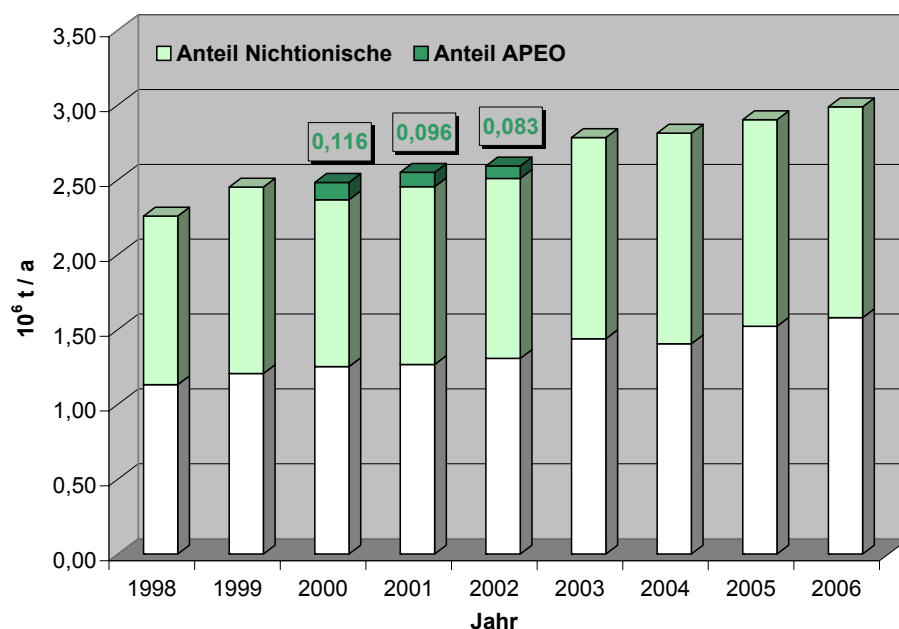


Abbildung 1.1: Tensidproduktion in Westeuropa im Zeitraum von 1998 bis 2006 (für 1998, 1999 und ab 2003 sind keine Einzeldaten für APEO öffentlich zugänglich, Daten aus [62]).

Bei den meisten als Detergentien oder Formulierungshilfsstoffe verwendeten Tensiden, denen aufgrund ihrer weiten Verbreitung eine große wirtschaftliche Bedeutung zukommt (s. **Abb. 1.1**), handelt es sich um solche anthropogenen Stoffe. Tenside, die sowohl in industriellen Prozessen als auch in Haushalten ihren Einsatz finden, haben eine der größten Produktionsraten aller organischer Chemikalien. Im Jahr 1998 betrug die Weltjahresproduktion mehr als 10 Millionen Tonnen [296]. Für dieses Jahrzehnt wird mit einem Wachstum des Tensidmarktes von 3 % pro Jahr gerechnet, resultierend in einem erwarteten weltweiten Gesamtmarkt von annähernd 14 Millionen Tonnen für das Jahr 2010 [211]. Tenside als oberflächenaktive Agenzien, die aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften in Lösemitteln die Oberflächenspannung herabsetzen und eine Neigung zur Mizellbildung aufweisen, dienen vor allem als wichtiger Bestandteil in Wasch- und Reinigungsmitteln, zur Formulierung von verschiedenartigen Haushalts- und Industrieprodukten wie auch als Hilfsstoffe in kosmetischen Produkten und Körperpflegemitteln.

Die in dieser Arbeit untersuchten Alkylphenoethoxylate (APEO) gehören zur Gruppe der nichtionischen Tenside und machen mit $0,7007 \cdot 10^6 t$ (im Jahr 1998, [289]) einen Anteil von ca. 7 % am weltweiten Gesamtensidverbrauch von $9,8605 \cdot 10^6 t$ (im Jahr 1998, [289]) aus (vgl. hierzu auch **Abb. 1.1**).

Nicht nur wegen des weit verbreiteten Einsatzes von Tensiden bedarf es einer besonderen Beachtung dieser Stoffe bezüglich ihres Verhaltens in der Umwelt, sondern auch weil es sich um relativ toxische Verbindungen handelt [211]. Aufgrund ihrer Anwendung kommt besonders der aquatischen Toxizität, die zwischen unterschiedlichen Wasserorganismen wie etwa Fischen, Daphnien, Algen oder Bakterien sehr unterschiedlich sein kann, eine wichtige Rolle zu [211]. Obwohl die Toxizität von intakten Tensidmolekülen substanzspezifisch ist, können ihre grenzflächenaktiven Eigenschaften als solche schädliche Wechselwirkungen, wie z. B. das Zerstören von Biomembranen und die Denaturierung von Proteinen, ausüben [175, 211]. Werden Umweltprobleme bei einigen Tensiden, wie z. B. den verzweigten Alkylbenzolsulfonaten, vor allem aufgrund ihrer geringen biologischen Abbaubarkeit verursacht, so verhält es sich bei den APEO anders (s. **Abs. 2.4**, S. 31). Der Einsatz von APEO ist vor allem wegen der Persistenz und Toxizität ihrer Abbauprodukte, wie z. B. 4-Nonylphenol, kritisch zu bewerten [246, 399]. Daher wurde die Verwendung von APEO vor allem in Westeuropa und Nordamerika sowohl durch einen freiwilligen Selbstverzicht der Industrie als auch durch gesetzliche Regulierungen eingeschränkt. In Europa dürfen seit 2003 nicht mehr als 0,1 % (w/w) Nonylphenoethoxylat (gilt ebenfalls für Nonylphenol) in Pestizid- und Biozidformulierungen enthalten sein [125]. Aus diesem Grund ist die Zahl der in Deutschland zugelassenen Pflanzenschutzmittel, die Nonylphenoethoxylat (NPEO) oder Octylphenoethoxylat (OPEO) enthalten, in den letzten Jahren stark zurückgegangen (s. **Abb. 1.2**). Oben erwähnter Grenzwert gilt mit einigen Ausnahmen auch

für alle Zubereitungen, die zum Zweck der industriellen und gewerblichen sowie Haushaltsreinigung dienen oder bei der Textil- und Lederverarbeitung, als Emulgator in Melkfett, bei der Metallverarbeitung, bei der Zellstoff- und Papierherstellung und als kosmetische Mittel oder sonstige Körperpflegemittel angewendet werden.

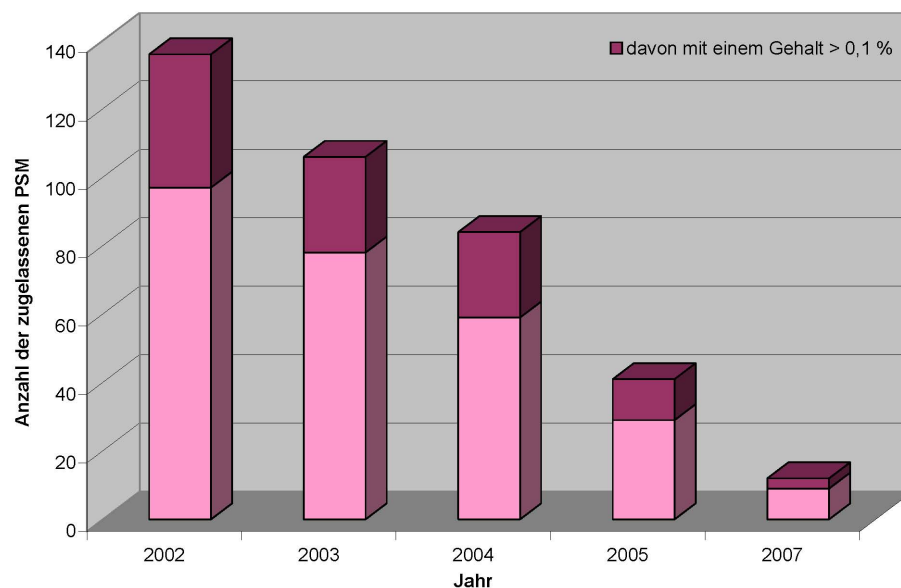


Abbildung 1.2: Rückgang der Anzahl in Deutschland zugelassener Pflanzenschutzmittel mit NPEO oder OPEO bis zum Jahr 2007 [53].

Dennoch ist ein weltweiter, vollständiger Ersatz von APEO wegen ihrer exzellenten Eigenschaften und geringen Produktionskosten nach wie vor nicht in Sicht. Aufgrund der Persistenz der APEO-Metaboliten 4-Nonylphenol und 4-*tert*-Octylphenol sowie deren Wirkung als Xenoöstrogene ist neben dem Monitoring dieser und anderer APEO-Abbauprodukte in der aquatischen Umwelt auch die Analytik von APEO selbst von zentraler Bedeutung. Geeignete Methoden können zur Überprüfung der Einhaltung gesetzlicher Richtlinien und Grenzwerte, z. B. bei der Verwendung der APEO als Formulierungshilfsstoffe in Pflanzenschutzmitteln, dienen.

Kapitel 2

Alkylphenoethoxylate in ihrer Bedeutung als nichtionische Tenside

2.1 Nomenklatur, Struktur und Eigenschaften von Alkylphenoethoxylaten

Bei den Alkylphenoethoxylaten (APEO) handelt es um Verbindungen, die aufgrund ihrer amphiphilen Molekülstruktur grenzflächenaktive Eigenschaften aufweisen. Diese nichtionischen Tenside werden zur Gruppe der sogenannten EO-Addukte gezählt und werden auch als Polyoxyethylenalkylphenole, polyethoxylierte Alkylphenole oder Alkylphenolpolyglykolether bezeichnet [305]. Unter der Gruppe der EO-Addukte werden die Stoffe zusammengefasst, die durch Anlagerung von Ethylenoxid hergestellt wurden. Daher tragen APEO wie alle anderen EO-Addukte auch Polyoxyethylengruppen als hydrophile Reste. Der hydrophobe Molekülteil wird im Fall der APEO durch die Alkylphenylgruppe gebildet (siehe **Abb. 2.1**).

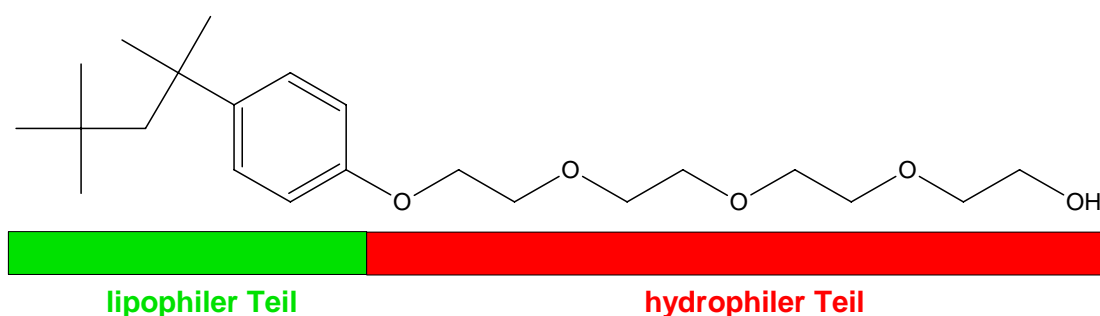


Abbildung 2.1: Struktur eines APEO-Tensids am Beispiel von 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)-phenoltetraethoxylat.

APEO werden in der Regel durch ihren Ethoxylierungsgrad charakterisiert [85]. Der Ethoxylierungsgrad wird als die Anzahl n_{EO} der Oxyethylengruppen ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$) pro APEO-Molekül definiert. Handelt es sich um molekulareinheitliche Spezies entspricht n_{EO} dem Verhältnis der Anzahl N_{EO} aller Oxyethylengruppen zur Anzahl N_{APEO} aller APEO-Moleküle, es gilt also:

$$n_{EO} = \frac{N_{EO}}{N_{APEO}} \quad (2.1)$$

Da es sich bei den kommerziell erhältlichen Produkten aufgrund des Herstellungsverfahrens um polydisperse Alkylphenolethoxylate mit einer Verteilung der Ethoxylatkettenlänge (s. **Abs. 2.2.1**, S. 11) handelt, werden sie durch den mittleren Ethoxylierungsgrad \bar{n}_{EO} (Zahlenmittel) beschrieben. Es gilt entsprechend:

$$\bar{n}_{EO} = \frac{\sum_{i=1}^N N_{EO,i}}{\sum_{j=1}^L N_{APEO,j}} \quad (2.2)$$

APEO sind farblose bis schwach gelbliche Verbindungen, die je nach Kettenlänge der Polyoxyethylengruppe flüssig sind (für niedrige Molekulargewichte) oder eine pastöse bis wachsartige Konsistenz haben (für höhere Molekulargewichte). Nahezu alle industriell bedeutsamen APEO werden aus Alkylphenolen mit verzweigten Alkylketten gewonnen (s. **Abs. 2.2.1**, S. 11), wobei die beiden wichtigsten Vertreter Nonylphenolethoxylat (NPEO) und Octylphenolethoxylat (OPEO) als hydrophobe Gruppe 4-Isononylphenyl- bzw. 4-*tert*-Octylphenylreste tragen [55, 214, 305]. Das Verhältnis *para*-/*ortho*-Isomer der einzelnen APEO-Oligomere hängt im wesentlichen vom Herstellungsprozess der Alkylphenole ab (s. **Abs. 2.2.1**, S. 11). Dodecylphenyl(DDPEO)-, Tributylphenyl(TBPEO) und Dinonylphenolethoxylat (DNPEO) spielen lediglich eine untergeordnete Rolle.

Die grenzflächenaktiven Eigenschaften von APEO und damit ihre Fähigkeit, als Emulgatoren, Dispergiermittel, Lösungsvermittler oder Benetzungsmittel zu wirken, hängen wie bei allen Tensiden im wesentlichen von ihrer Molekülstruktur ab, also der Art und Größe der hydrophilen und hydrophoben Gruppen. Die Hydrophobizität des Alkylphenylrestes wird durch den Verzweigungsgrad und die Länge der Alkylkette am aromatischen Ring bestimmt. Eine Zunahme der Länge und eine Abnahme des Verzweigungsgrades bewirken im Vergleich zu einer kürzeren und stärker verzweigten Alkylkette eine Verminderung der Wasserlöslichkeit [55]. So sind beispielsweise bei 20 °C 24,5 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ Octylphenoltetraethoxylat ($\text{OP}(\text{EO})_4$)¹ in Wasser löslich. Für Nonylphenoltetraethoxylat ($\text{NP}(\text{EO})_4$) beträgt die Löslichkeit lediglich 7,65 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ [5]. Ebenso hängt die kritische Mizellbil-

¹Nachfolgend werden APEO-Oligomere mit n Oxyethyleneinheiten mit $\text{AP}(\text{EO})_n$ gekennzeichnet, APEO-Gemische mit im Mittel n Oxyethyleneinheiten mit $\text{AP}n\text{EO}$.

dungskonzentration (CMC^2) von der Alkylkette des Aromaten ab, mit steigender Anzahl der Kohlenstoffatome nimmt die CMC ab.

Im Gegensatz zu den anionischen und kationischen Tensiden tragen nichtionische Tenside in wässriger Lösung keine diskrete Ladung. Die Hydrophilie des Polyoxyethylenrestes wird aufgrund von Wasserstoffbrückenbindungen von Wassermolekülen mit den kovalent gebundenen Sauerstoffatomen dieser Gruppe verursacht [55, 214, 305]. Da die Energie der Wasserstoffbrückenbindung mit ca. $7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ [305] relativ schwach ist, nimmt mit steigender Temperatur die Hydratation der Polyoxyethylengruppe ab, so daß die Löslichkeit von APEO in Wasser ebenfalls mit steigender Temperatur abnimmt [214, 305]. Für eine gegebene Konzentration wäßriger Lösungen ist die Temperatur, oberhalb der eine Trübung auftritt und sich zwei nicht mischbare Phasen bilden, eine für nichtionische Tenside charakteristische Größe [55, 102, 214, 305]. Sie wird als Trübungspunkt bezeichnet und hängt unter anderem von der Tensidkonzentration, der Zugabe von Salzen und dem Zufügen von unpolaren Lösemitteln ab. Von Ausnahmen abgesehen vermindert sich im allgemeinen der Trübungspunkt durch Zugabe von Salzen (Salting-Out-Effekt) bzw. erhöht sich durch Zusatz von unpolaren Lösemitteln [305]. Für verdünnte Lösungen sinkt der Trübungspunkt mit steigender APEO-Konzentration ab (s. **Tab. 2.1**). In einem Bereich von

Tabelle 2.1: Abhängigkeit der Trübungspunkte von der Konzentration wässriger Lösungen eines Octylphenoethoxylates mit $\bar{n}_{EO} = 8,5$ (aus [305]).

Konzentration / % (w/w)	Trübungspunkt / °C
0,01	> 100
0,015	> 100
0,02	38
0,03	48
0,05	48
0,10	49
0,50	50
5,0	50

0,5–10 % (w/w) ist der Trübungspunkt nahezu unabhängig von der Konzentration [55], so daß er zur Charakterisierung von nichtionischen Tensiden wie den APEO geeignet ist. Mit steigendem Ethoxylierungsgrad der APEO nimmt der Temperaturwert für den Trübungspunkt zu (s. **Tab. 2.2**).

²Im Englischen als critical micelle concentration bezeichnet. Definiert als die Konzentration, bei der primäre Bildung von Mizellen auftritt.

Tabelle 2.2: Abhängigkeit des Trübungspunktes vom Ethoxylierungsgrad am Beispiel von Nonylphenoethoxylat.

\bar{n}_{EO}	Prüfverfahren ^a			Quelle
	Verfahren A ^b	Verfahren C ^c	Verfahren D ^d	
3			44–46 °C	[315]
5			60–62 °C	[349]
6			68–70 °C	[315]
8	30 °C			[122]
9	51 °C			[122]
10	65 °C	37 °C		[122]
11	74 °C	46 °C		[122]
12	81 °C	53 °C		[122]
13	87 °C	58 °C		[122]
14	91 °C	62 °C		[122]
15	94 °C	66 °C		[122]
16	96 °C	68 °C		[122]
17		70 °C		[122]
18		71 °C		[122]
20		72 °C		[122]
23		73,0–75,0 °C		[72]
30		75,5–77,5 °C		[72]

^aNach DIN EN 1890 [102].^bFür eine 1 %-ige (w/w) Lösung in vollentsalztem Wasser.^cFür eine 1 %-ige (w/w) Lösung in 10 %-iger (w/w) wässriger NaCl-Lösung.^dFür eine 10 %-ige (w/w) Lösung in 25 %-iger (w/w) wässriger Butyldiglykollösung.

Neben der Löslichkeit in Wasser, dem wichtigsten Lösemittel für sehr viele Anwendungen, werden weitere Eigenschaften, die für viele Applikationen der APEO von Bedeutung sind, durch den Ethoxylierungsgrad maßgeblich beeinflußt. So hängt die Oberflächenspannung wässriger Lösungen nicht nur von der Konzentration der Lösung ab, sondern auch sehr stark vom Ethoxylierungsgrad des verwendeten APEO. Wie für alle Tenside nimmt die Oberflächenspannung wässriger Lösungen mit steigender Konzentration bis zu dem Punkt rasch ab, an dem die Oberfläche von einer monomolekularen Tensidschicht bedeckt ist [305]. Ab diesem Punkt sinkt sie mit steigender Konzentrationen nur noch sehr langsam ab, bis sie einen minimalen Wert erreicht und annähernd konstant bleibt. Diese minimale, erreichbare Oberflächenspannung hängt für denselben APEO-Typ in der Weise von der Polyoxyethylengruppe ab, daß sie mit steigendem Ethoxylierungsgrad zunimmt [305]. Die

geringste Oberflächenspannung wird somit für die am wenigsten wasserlöslichen Oligomere erreicht. Für Lösungen mit $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ sinkt sie in der Reihe von NP9EO, NP14EO und NP20EO von 31 über 36 auf $41 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ab [349].

Auch die Mizellbildung wird durch die Kettenlänge der hydrophilen Gruppe der APEO bestimmt. Da die Mizellbildung von der Grenzflächenaktivität der Tenside abhängt, nimmt die CMC für APEO mit sinkender Löslichkeit der Moleküle — also steigender Temperatur und abnehmendem Ethoxylierungsgrad — zu [305]. Aus **Tabelle 2.3** wird der Einfluß der Polyoxyethylenkettenlänge deutlich:

Tabelle 2.3: Abhängigkeit der kritischen Mizellbildungskonzentration vom Ethoxylierungsgrad am Beispiel von Nonylphenolethoxylat (aus [305]).

Produkt	CMC / $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	M / $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$	CMC / % (w/w)
NP4EO	$29,5 \cdot 10^{-6}$	380	0,0011
NP5EO	$61 \cdot 10^{-6}$	424	0,0026
NP6EO	$61 \cdot 10^{-6}$	468	0,0028
NP7EO	$70 \cdot 10^{-6}$	512	0,0035
NP8EO	$44 \cdot 10^{-6}$	556	0,0025
NP9EO	$67 \cdot 10^{-6}$	600	0,0046
NP10EO	$68 \cdot 10^{-6}$	644	0,0044
NP20EO	$79 \cdot 10^{-6}$	1113	0,0088

Die gebildeten Mizellen sind für APEO — wie für alle nichtionischen Tenside — deutlich größer als die Mizellen von anionischen oder kationischen Tensiden [305]. Besonders in der Nähe des Trübungspunktes steigt der Aggregationsgrad bzw. die Mizellengröße stark mit der Temperatur an. Die Mizellen werden dann optisch sichtbar. Aus diesem Grund sind nichtionische Tenside als Dispergiermittel oder Emulgatoren in der Nähe des Trübungspunktes am wirksamsten [305].

Wie bereits deutlich wurde, hängt die Eignung von Tensiden für unterschiedliche Anwendungsbereiche (z. B. als Emulgatoren oder Benetzungsmittel) in erster Linie von den grenzflächenaktiven Eigenschaften ab, die durch die hydrophilen und lipophilen Gruppen im Molekül bestimmt werden. Ein Konzept, das die Klassifizierung von nichtionischen Tensiden anhand der Molekülstruktur zufriedenstellend ermöglicht, stellt die sogenannte Hydrophil/Lipophil-Bilanz (HLB) dar [214, 305]. Es stellt die Größe des hydrophilen Molekülteils in Bezug zur Dimension des Gesamtmoleküls. HLB-Werte werden definiert als das Verhältnis der Molmasse $M_{\text{hydrophil}}$ der hydrophilen Fraktion im Tensid zur Molmasse

M des gesamten Tensids [55, 214, 305]:

$$\text{HLB} = 20 \cdot \frac{M_{\text{hydrophil}}}{M} \quad (2.3)$$

Auf diese Weise ergibt sich eine Skala von $\text{HLB} = 0$ (wasserunlöslich) bis $\text{HLB} = 20$ (sehr gut wasserlöslich), die eine Klassifizierung nichtionischer Tenside nach folgender Tabelle erlaubt:

Tabelle 2.4: HLB-Werte für nichtionische Tenside (nach [214], Beispiele aus [305]).

HLB-Bereich	Verhalten in Wasser	Anwendungsbeispiele	APEO-Beispiel	HLB-Wert
0–3	unlöslich	Entschäumer, Dispergiermittel für Feststoffe in Öl, Koemulgator, Entfettungsmittel		
3–6	unlöslich, dispergierbar	Wasser-in-Öl-Emulsionen, Koemulgator	NP1EO	4,5
6–9	dispergierbar, ergibt milchige Lösungen	Benetzungsmittel, Wasser-in-Öl-Emulsionen	NP4EO	9
8–10	löslich, ergibt milchig trübe bis durchscheinende Lösungen	Benetzungsmittel		
10–13	löslich, ergibt durchscheinende bis klare Lösungen	Öl-in-Wasser-Emulsionen, Detergentien und Reinigungsmittel	NP6EO	11
13–15	löslich, ergibt klare Lösungen	Öl-in-Wasser-Emulsionen, Detergentien und Reinigungsmittel	NP11EO	14
> 15	löslich, ergibt klare Lösungen	Lösungsvermittler, Reinigungsmittel	NP20EO	16

2.2 Industrielle Darstellung und Verwendung von Alkylphenoethoxylaten

Der deutsche Markt für Alkylphenoethoxylate hat sich in den letzten beiden Jahrzehnten stark gewandelt, da es seit 1986 eine freiwillige Selbstverpflichtung der Industrieverbände für eine stufenweise Substitution der APEO in Wasch- und Reinigungsmitteln (s. a. S. 180 in Stache Tensid-Taschenbuch [349]) gibt.

Tabelle 2.5: Auswahl einiger bedeutender Produzenten von Alkylphenoethoxylaten für den europäischen und den Weltmarkt.

Produzent	APEO	Handelsname
Akzo Nobel	NPEO	Witconol NW, Witconol NP
	OPEO	Witconol S-100
	DDPEO	Witconol NIO
BASF	APEO	Lutensol AP, Emulan PO, Emulan NP, Emulan OP25
Clariant	NPEO	Arkopal N, Hostapal N
	OPEO	Arkopal O, Emulsogen IO
	TBPEO	Sapogenat T
	TSPEO	Emulsogen TS
Cognis	NPEO	Agnique NP
	OPEO	Agnique OP
Dow	NPEO	Tergitol NP
	OPEO	Triton X
Huntsman	NPEO	Empilan NP, Surfonic N, Teric N
	OPEO	Empilan PP, Surfonic OP, Teric X
	DDPEO	Surfonic DDP, Teric DD
	DNPEO	Surfonic DNP
Rhodia	NPEO	Igepal BC
	OPEO	Igepal CA
	TSPEO	Soprophor
Sasol	NPEO	Marlophen NP, Nonfix, Slovafof
	OPEO	Otix

In den nächsten Jahren ist aufgrund der seit 2003 gültigen gesetzlichen Beschränkungen bei der APEO-Anwendung durch die Europäische Union [125] ein weiterer Rückgang

des APEO-Bedarfs zu erwarten. Für das Jahr 1990 führte Stache noch für den deutschen Markt 225 APEO-Produkte von 23 Anbietern unter 41 verschiedenen Handelsnamen in seinem Tensid-Taschenbuch auf [349]. Mittlerweile wird beispielsweise Nonylphenol, das mengenmäßig bedeutendste Ausgangsprodukt für die APEO-Produktion, nur noch von der Sasol Germany GmbH in Deutschland am Standort Marl hergestellt [40] und auch dort zu NPEO ethoxyliert. Die Octylphenolproduktion von der BASF AG in Ludwigshafen wurde schon vor einigen Jahren eingestellt [40]. So werden APEO von bedeutenden Tensidproduzenten wie z. B. der Clariant GmbH, die die Ethoxylierungsanlagen der ehemaligen Hoechst AG übernommen hat, überhaupt nicht mehr in Deutschland hergestellt. Die Clariant GmbH produziert APEO in Spanien, Mexico und den USA [76]. Da es sich bei den Ethoxylierungsanlagen um Multi-Purpose-Anlagen handelt, die auch zur Herstellung von Fettalkoholethoxylaten u. ä. verwendet werden können [40], ist eine Umstellung dieser Anlagen auf eine Produktion anderer EO-Addukte und somit eine Anpassung an lokale Märkte ohne weiteres möglich. Bedeutende Tensidproduzenten, die auch APEO auf dem europäischen und dem Weltmarkt anbieten, sind der **Tabelle 2.5** zu entnehmen.

2.2.1 Industrielle Darstellung von Alkylphenolethoxylaten

Alkylphenolethoxylate werden durch mehrfache Kondensation von Alkylphenolen mit Ethylenoxid hergestellt [55, 85, 214, 305]. Als Ausgangsprodukte nahezu aller industriell bedeutsamer APEO dienen Alkylphenole mit verzweigten Alkylketten wie etwa Octylphenol, Nonylphenol oder Dodecylphenol [55, 214, 305]. Bei diesen Alkylphenolen handelt es sich häufig um komplexe Mischungen verschiedener Isomere und Homologe, da diese großtechnisch aus Phenol und Propen oder Buten gewonnen werden. Im Produktionsprozeß oben genannter Alkylphenole findet zunächst eine säurekatalysierte Oligomerisierung von Propen bzw. *n*-Buten oder Isobuten zu höheren Olefinen statt, die destillativ isoliert und gereinigt werden [32]. Die hierbei wichtigsten Olefine zur Alkylierung von Phenol sind [133]:

Diisobuten (4:1 Mischung aus 2,4,4-Trimethyl-1-penten und 2,4,4-Trimethyl-2-penten) für Octylphenol,

Di-*n*-buten (Octenisomerengemisch) für Octylphenol,

Propentramer (Nonenisomerengemisch) für Nonylphenol,

Propentetramer (Dodecenisomerengemisch) für Dodecylphenol und

Tri-*n*-buten (Dodecenisomerengemisch) für Dodecylphenol.

Die Friedel-Crafts-Alkylierung (s. **Abb. 2.2**) erfolgt unter Verwendung saurer Katalysatoren [133, 307]. Technisch bedeutend für die Nonylphenolherstellung ist das Hülsvverfahren, bei dem zweistufige Alkylierung adiabatisch in zwei gleichgroßen Reaktoren an Festbettkatalysatoren aus makroporösen, wasserfreien sauren Ionenaustauscherharzen mit Austauschkapazitäten von 80 meq H⁺/ 100 ml (1. Stufe) und 140 meq H⁺/ 100 ml (2. Stufe) durchgeführt wird [133]. In Abhängigkeit von der Prozeßführung und der Reinheit des verwendeten Propentrimers können Ausbeuten von mehr als 98 % Nonylphenol erzielt werden, wobei das Verhältnis von *para*-/*ortho*-Nonylphenol ca. 90:10 beträgt [133] (s. a. **Abb. 2.2**).

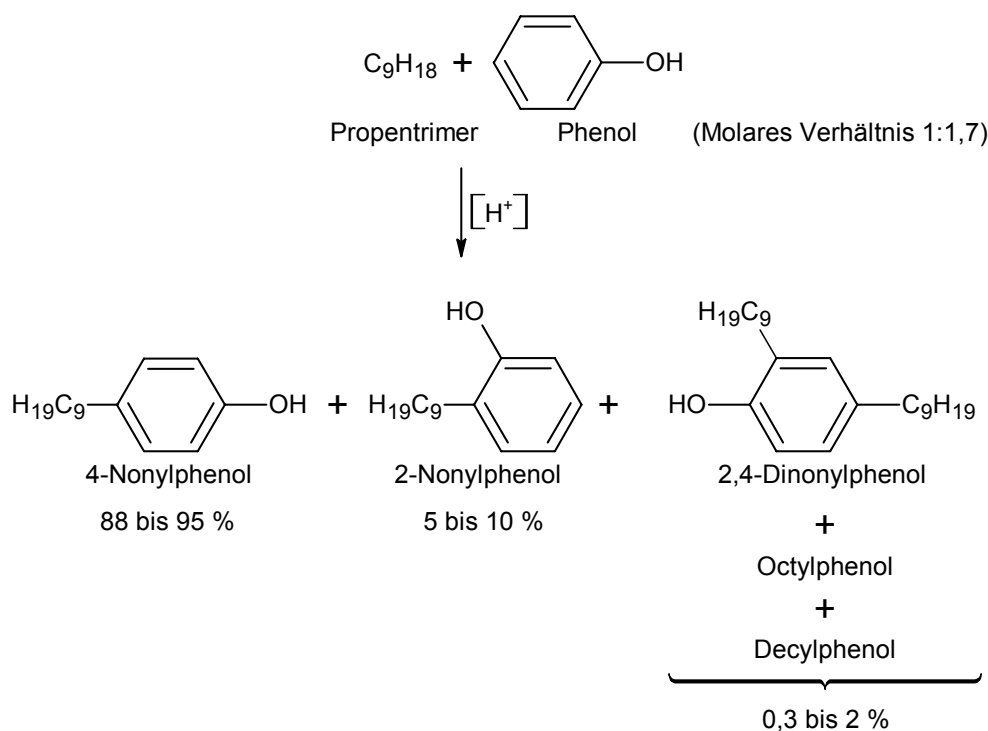
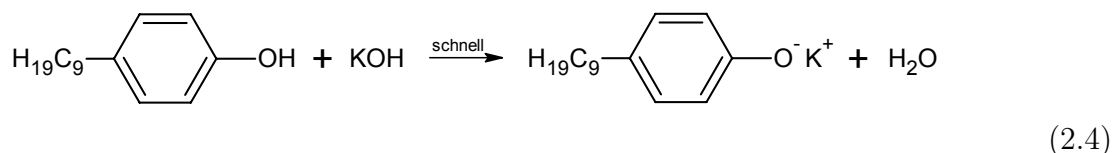


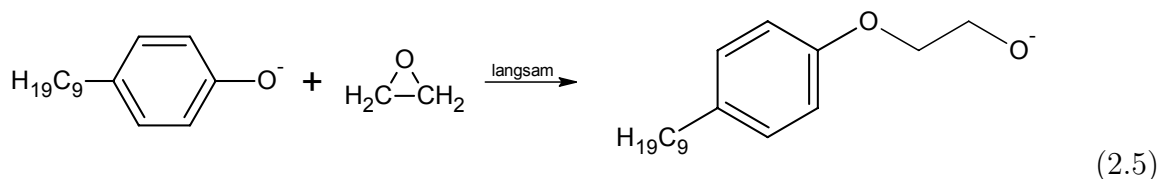
Abbildung 2.2: Nonylphenoldarstellung mittels Friedel-Crafts-Alkylierung von Phenol mit Propentrimmer an sauren Ionenaustauscherharzen.

Nonylphenol mit einer Reinheit von 99,7 % und einem *para*-/*ortho*-Verhältnis von mindestens 95:5 kann durch sorgfältige Destillation realisiert werden. Auch für die Darstellung von Octyl- und Dodecylphenol werden saure Ionenaustauscherharze verwendet [133]. Bei der Herstellung von *tert*-Octylphenol können je nach Reinheit des verwendeten Diisobuten Ausbeuten von 93–96 % 4-*tert*-Octylphenol (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol) erlangt werden. Nebenprodukte sind 4-*tert*-Butylphenol (0,5–1 %), 2-*tert*-Octylphenol (2–3 %) und Dialkylphenole (2–3 %) [133]. Höhere Reinheiten lassen sich durch Fraktionierung unter Vakuum verwirklichen. In Abhängigkeit von der Qualität des Propentetramers kann Dodecylphenol mit einer Reinheit von 90–95 % gewonnen werden [133].

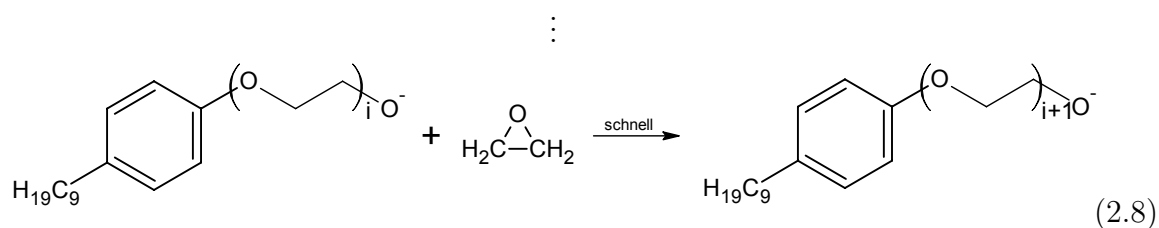
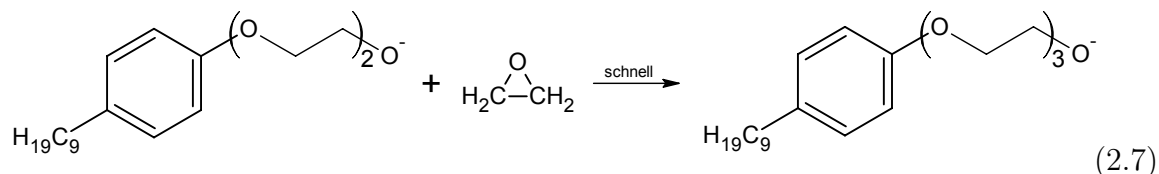
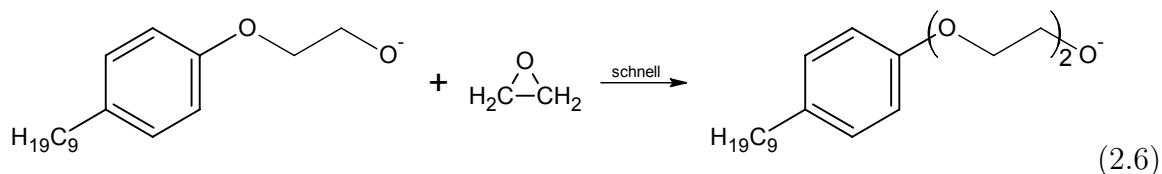
Die durch Friedel-Crafts-Alkylierung aus Phenol und dem entsprechenden Alken gewonnenen Alkylphenole dienen als Ausgangsprodukt zur APEO-Darstellung. So sind im Jahr 2000 über 80 % des in Deutschland verarbeiteten Nonylphenols und knapp 70 % des Octylphenols in die Weiterverarbeitung zu APEO gegangen [40]. Die Ethoxylierung von Verbindungen mit einem aciden Wasserstoffatom durch Addition von Ethylenoxid kann entweder durch eine Base oder durch eine Lewissäure katalysiert werden [214]. Ethoxylierung von Alkylphenolen erfolgt in der Regel mit basischen Katalysatoren wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid oder Natriummethanolat [55, 305, 400]. Zunächst erfolgt Aktivierung der Hydroxygruppe am Alkylphenol durch Deprotonierung mit Hilfe einer Base (**Gl. 2.4**).



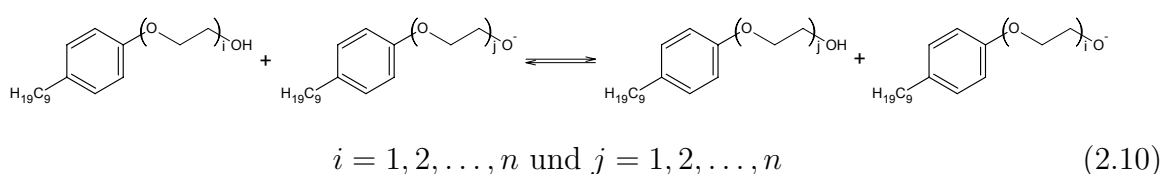
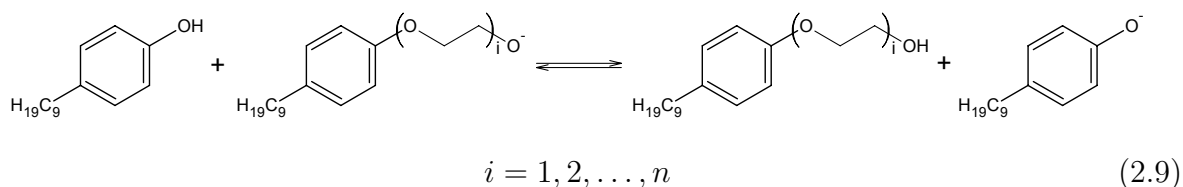
Die Kettenstartreaktion besteht in der irreversiblen Addition eines Ethylenoxidmoleküls an das Alkylphenolation (**Gl. 2.5**). Dabei findet Ringöffnung am Ethylenoxid durch nucleophile Substitution ($\text{S}_{\text{N}}2$) statt, bei der ein nucleophiler Angriff des Alkylphenolanions am Ringkohlenstoffatom des Ethylenoxids erfolgt [314, 329].



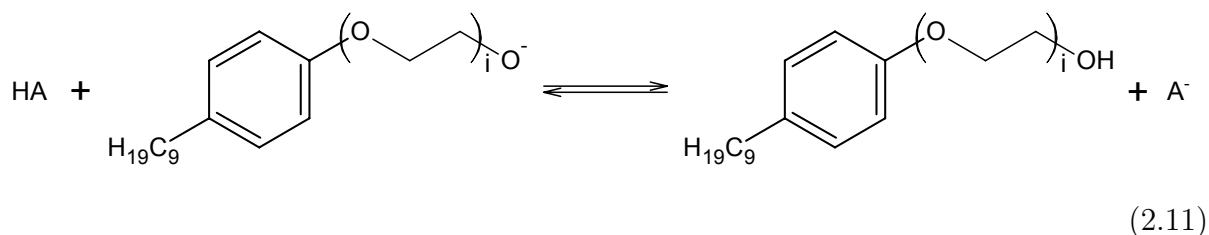
Während des Kettenwachstums (**Gl. 2.6**, **Gl. 2.7** und **Gl. 2.8**) findet jeweils irreversible Addition von Ethylenoxid an die gebildeten Ethoxylationen statt.



Die Kettenwachstumsreaktionen konkurrieren mit Protonentransfergleichgewichten [55, 214, 314]. Dabei wird entweder ein Proton vom Alkylphenol auf ein Ethoxylatanion übertragen (**Gl. 2.9**) oder es findet Übertragung eines Protons von einem Polyoxyethylenalkylphenolmolekül auf ein Ethoxylatanion statt (**Gl. 2.10**).



Kettenabbruch (**Gl. 2.11**) kann durch Zusatz einer Säure (HA) erreicht werden, wobei ein Proton auf das Ethoxylatanion übertragen wird.



Die Kinetik der Ethoxylierung wird durch die Ringöffnung des Ethylenoxids während des nucleophilen Angriffs des Phenolat- (**Gl. 2.5**) bzw. Ethoxylatanions (**Gl. 2.6** bis **Gl.**

2.8) bestimmt [314]. Da die Addition von Ethylenoxid deutlich langsamer verläuft als die Übertragung eines Protons [214, 329], kann vor der Addition eines weiteren Ethylenoxidmoleküls ein Protonentransfer (**Gl. 2.9** und **Gl. 2.10**) stattfinden. Hierbei kommt die Besonderheit bei der Ethoxylierung von Alkylphenolen im Vergleich zu den Alkoholen zum tragen, die in einem deutlichen Unterschied in der Acidität des Hydroxywasserstoffs zwischen der Ausgangsverbindung und den ethoxylierten Produkten besteht. Der Wasserstoff der Hydroxygruppe am Alkylphenolring ist deutlich saurer als der Hydroxywasserstoff am Ende der Ethylenglykoetherkette [55, 214, 305, 314, 329], so daß das Gleichgewicht in **Gl. 2.9** auf der rechten Seite liegt. Dies hat zur Folge, daß ein Proton von noch unverbrauchten Alkylphenol auf das primär gebildete Monoethoxylatanion übertragen wird, bevor ein weiteres Ethylenoxidmolekül addiert werden kann [214, 329]. Es wird also zunächst Alkylphenol nahezu vollständig in das Monoaddukt umgesetzt, bevor Polyoxyethylenalkylphenole mit zwei oder mehr Oxyethylengruppen gebildet werden [55, 214, 305, 329, 400]. Nach dem Verbrauch des Alkylphenols geht die Ethoxylierung deutlich schneller voran, da das Alkylphenolation wegen seiner geringeren Nucleophilie langsamer als die Ethoxylatanionen mit Ethylenoxid reagiert [214]. Wobei nachfolgend der Kettenwachstum (**Gl. 2.6**, **Gl. 2.7** und **Gl. 2.8**) mit gleichbleibender Geschwindigkeit vorangeht, da die Kettenlänge wegen der Ähnlichkeit in der Struktur und Basizität der Ethoxylatanionen keinen Einfluß auf die Reaktivität hat [55, 314, 329]. Ebenso ist die Acidität des Hydroxywasserstoffs nahezu unabhängig von der Ethoxylatkettenlänge, so daß die Gleichgewichtskonstante des Protonenaustausches zwischen den unterschiedlichen Ethoxylaten (**Gl. 2.10**) als annähernd eins angesehen werden kann [314]. D. h. die ablaufenden Protonenaustauschreaktionen nehmen keinen Einfluß auf die Geschwindigkeit des Kettenwachstums [329].

Aufgrund oben erwähnter Besonderheiten bei der Ethoxylierung der Alkylphenole ist die Verteilung der Ethoxylatkettenlänge bei den APEO eine andere als bei den Alkoholethoxylaten und die produzierten Ethoxylate sind nahezu frei von nicht umgesetzten Alkylphenol (s. **Tab. 2.6**). Die Ethoxylierung von Alkylphenolen mit basischen Katalysatoren führt in Abhängigkeit vom Katalysator, den Stoffmengenverhältnissen und weiteren Reaktionsbedingungen wie Druck und Temperatur zu einer unterschiedlichen Verteilung der Ethoxylatkettenlängen [305]. Die so erhaltenen polydispersen Alkylphenolethoxylate gehorchen einer Poissonverteilung, wenn die Ethoxylierung unter optimierten Bedingungen durchgeführt wurde, und werden durch ihren mittleren Ethoxylierungsgrad charakterisiert [85, 329, 400]. Die Ethoxylierungsprodukte von sterisch gehinderten Alkylphenolen — wie etwa 2,4-Dinonylphenol — gehorchen nicht der Poissonverteilung, wenn sie unter den üblichen Reaktionsbedingungen hergestellt wurden [122]. Tenside mit abweichender Oligomerenverteilung können durch das Mischen von Ethoxylaten mit unterschiedlichen mittleren Ethoxylierungsgraden gewonnen werden [85]. Das Herstellen eines Blends kann

Tabelle 2.6: Ethoxylierung von Alkoholen und Alkylphenolen mit 3 *mol* Ethylenoxid (aus [305]).

	Dodecanol	Nonylphenol
Freies Edukt	22 %	0 %
Monoethoxylat	10 %	10 %
Diethoxylat	14 %	24 %
Triethoxylat	16 %	27 %
Tetraethoxylat	15 %	20 %
Pentaethoxylat	12 %	11 %
Hexaethoxylat	7 %	5 %

lediglich zur Gewinnung von Ethoxylaten mit breiterer Kettenlängenverteilung genutzt werden [305]. Die Molekulargewichtsverteilung von einem Blend kann deutlich von einem durch Ethoxylierung gewonnenem APEO mit gleichem mittleren Molekulargewicht abweichen [400].

Industrielle Ethoxylierung wird hauptsächlich im diskontinuierlichen Betrieb in Hochdruckreaktoren aus Edelstahl durchgeführt, wobei Alkylphenol mit einem Anteil von 0,03–0,5 % (*w/w*) Katalysator (in der Regel NaOH und KOH) vorgelegt wird [122, 400]. Um die Bildung von Polyethylenglykol zu vermeiden, wird zunächst mittels Erhitzen unter Anlegen eines Vakuums und durch Spülen mit Stickstoff das Wasser, das mit dem Katalysator in den Reaktor eingetragen wurde und das durch die primäre Bildung von Alkylphenolat (s. **Gl. 2.4**) freigesetzt wurde, bis zu einem Gehalt von weniger als 0,1 % (*w/w*) entfernt [214, 400]. Nachdem das Substrat auf eine Reaktionstemperatur zwischen 130 °C und 180 °C erhitzt wurde, erfolgt Ethoxylierung bei 1–5 *bar* Überdruck unter Stickstoffatmosphäre [214]. Dabei wird das Ethylenoxid verflüssigt unter intensivem Rühren und Kühlen der Reaktionsmischung zudosiert. Einstellung des gewünschten Ethoxylierungsgrades erfolgt über die Mengenverhältnisse von Substrat und Ethylenoxid [214]. Die Reaktionsmischung wird durch Zusatz von Essigsäure, Phosphorsäure, Propionsäure oder Milchsäure neutralisiert [400].

Abweichend von dem Prinzip der Rührreaktormethode arbeitet der Pressindustria-Alkoxylierungsprozeß (s. **Abb. 2.3**), der zur Ethoxylierung und Propoxylierung genutzt wird [214]. Bei diesem Verfahren wird die Reaktionsmischung, die mit hoher Geschwindigkeit zirkuliert, in einer Gasphase aus Ethylenoxid in einem speziellen Mischer (c) dispergiert, so daß eine schnelle Absorption von Ethylenoxid erreicht wird [214]. Dabei wird zunächst Substrat und Katalysator in einem beheizten Behälter (a) gemischt, mittels Va-

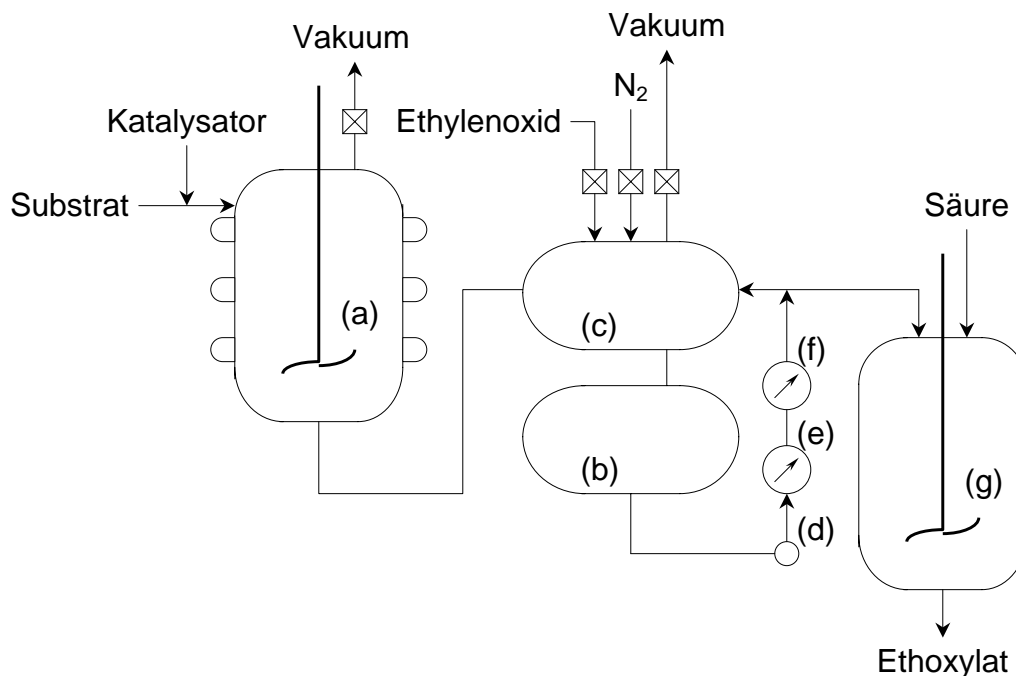


Abbildung 2.3: Schema der Pressindustria-Alkoxylierungsanlage: (a) Sammelbehälter, (b) Reaktor, (c) Gas/Flüssig-Mischer, (d) Umlaufpumpe, (e) Heizung, (f) Kühlung und (g) Neutralisationsbehälter (aus [214]).

kuum von Wasser befreit und dann in den Reaktor (b) geleitet. Mit Hilfe einer Pumpe zirkuliert die Mischung so lange durch den Mischer und den Reaktor, bis sie mittels eines Wärmeaustauschers (e) auf die erforderliche Reaktionstemperatur gebracht wurde und durch Anlegen eines Vakuums oder durch das Durchströmen mit Stickstoff von restlicher Feuchtigkeit befreit wurde [214]. Dann wird Ethylenoxid in die Gasphase des Mixers geleitet, wo es von der fein dispergierten flüssigen Reaktionsmischung aufgenommen wird. Die Reaktion läuft in der flüssigen Phase im Mischer und dem Reaktor, wohin sie aus dem Mischer fließt, ab. Die freigesetzte Energie der Reaktion, die bei 180–190 °C und einem Maximaldruck von 5 bar abläuft, wird mittels eines Kühlsystems (f) abgeführt [214]. Nach Erreichen des angestrebten Ethoxylierungsgrades wird die Reaktionsmischung in den Neutralisationsbehälter (g) geleitet. Dieser Prozeß ermöglicht hohe Umsatzraten bei gleichmäßiger Produktqualität [214].

2.2.2 Verwendung von Alkylphenoethoxylaten

APEO weisen als nichtionische Tenside ein sehr breites Anwendungsspektrum auf und können in Abhängigkeit von ihren Eigenschaften (s. **Abs. 2.1**) alleine oder in Verbindung mit anderen Tensiden in zahlreichen Anwendungen als Reinigungsmittel, Emulgatoren, Dispergiermittel, Lösungsvermittler oder Benetzungsmittel zum Einsatz kommen. Bei den

produzierten und verwendeten APEO handelt es sich überwiegend um NPEO [211,40]. Am Gesamtvolumen des APEO-Marktes machen NPEO etwa 80 % aus, der Anteil von OPEO liegt bei 15–20 % [211]. Am häufigsten werden APEO als Emulgatoren eingesetzt [233,40]. Für einige APEO gibt es in verschiedenen Ländern bezüglich ihrer Anwendung aufgrund von gesetzlichen Regelungen und Selbstverpflichtungen der Industrie Unterschiede.

2.2.2.1 Wasch-, Reinigungs- und Desinfektionsmittel

APEO können für verschiedene Reinigungszwecke eingesetzt werden, da sie ein sehr gutes Reinigungsvermögen aufweisen [305]. Sie kommen dabei häufig in Verbindung mit anderen Tensiden zum Einsatz. Die meisten Produkte enthalten NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9\text{--}12$, in Gegenwart von starken Elektrolyten und für höhere Temperaturen ist $\bar{n}_{EO} = 15$ das Optimum [305]. APEO sind sowohl für Haushaltsreiniger als auch Waschmittel geeignet. Speziell für den sanitären Bereich kommen sie in Desinfektionsmitteln zum Einsatz, aber auch in Flüssig- (z. B. für Fußböden) oder Trockenreinigern (z. B. für Teppichböden) [305,400]. APEO können sowohl in Flüssig- als auch in Pulverwaschmitteln verwendet werden [400]. Sie sind auch in Produkten für gewerbliche Wäschereien enthalten [400]. In industriellen und gewerblichen Anwendungen dienen sie häufig zur Reinigung von festen Oberflächen, z.B. in Reinigern für extreme Verschmutzungen oder zum Entfetten [305,400]. Hier spielt besonders das Reinigen von Metalloberflächen eine wichtige Rolle [233]. Beim Reinigen von Automobilen sind verschiedene Anwendungen bekannt [400]. Generell sind NPEO sehr effektiv bei der Reinigung von Textilien und OPEO sind verbreiteter zur Reinigung von harten Oberflächen [400].

APEO werden allerdings in Haushaltsprodukten in Westeuropa und Nordamerika nicht mehr und in Industriereinigern nur noch stark eingeschränkt verwendet [305,40]. So hatten beispielsweise die PARCOM-Mitgliedsstaaten im Jahr 1992 empfohlen [284], den Einsatz von NPEO in Reinigungsmittel für häusliche Anwendungen bis zum Jahr 1995 und für Reinigungsmittel generell bis zum Jahr 2000 stufenweise einzustellen. In Deutschland gibt es seit 1986 eine Selbstverpflichtung der entsprechenden Industrieverbände zur Substitution von APEO in allen Produkten, die dem Wasch- und Reinigungsmittelgesetz von 1975 unterliegen [233,349,40]. Dementsprechend ist die Verwendung von APEO in Reinigungsmitteln sehr stark zurückgegangen [233,40].

2.2.2.2 Textil- und Lederhilfsmittel

Abgesehen von ihrer Funktion als waschaktive Substanzen in allen Waschvorgängen spielen die APEO in der Textil-, Leder- und Pelzverarbeitung eine vielfältige Rolle. Hierbei kommt vor allem ihre emulgierende und dispergierende Wirkung z.B. in der Wol-

laufbereitung, bei der Spinnerei und bei der Weberei zum Tragen [233]. In der Textilindustrie kommen APEO in Schälzmitteln, Schlichtemitteln, in Benetzungs- sowie Entnetzungsmitteln, in Imprägnier- sowie Beschichtungsmitteln, in Färbereihilfsmitteln und in Mitteln zum Entfetten, Bleichen, Beuchen sowie Karbonisieren von Wolle zum Einsatz [233, 305, 40, 400]. Für Anwendungen bei niedriger Temperatur dienen NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 8-9$, bei höheren Temperaturen mit $\bar{n}_{EO} = 20$ [305]. Außerdem erfüllen APEO die Funktion als antistatische Agenzien [305]. APEO-haltige Lederhilfsmittel werden hauptsächlich zum Entfetten von Häuten verwendet [233, 400]. Außerdem werden APEO bei der Lederverarbeitung in Einweichmitteln von Häuten, als Stabilisatoren in Fettungsmitteln, beim Gärben und beim Färben verwendet [40, 400].

Alle Netz- und Waschmittel sowie andere Hilfsmittel für die Textil-, Leder- und Pelzverarbeitung, die unter das Wasch- und Reinigungsmittelgesetz fallen, wurden nach Angabe der Industrieverbände in Deutschland vollständig ersetzt [233].

2.2.2.3 Hilfsmittel für die Kunststoffindustrie, Farben- und Lackherstellung

APEO werden als Emulgatoren für die Emulsionspolymerisation verwendet. In Deutschland stellt das die wichtigste APEO-Anwendung dar [233, 40]. Die Herstellung von Emulsionspolymerisaten auf Basis von Styrol-Butadien, Styrol-Acrylat, reinem Acrylat oder Polyvinylchlorid finden in Kunststoffbeschichtungen, Farben und Lacken, Klebstoffen, Dichtungsmassen sowie ähnlichen Produkten ihre Anwendung [233, 40]. Der Mengenanteil liegt bei maximal 4 % (w/w), im Mittel bei 1,5 % (w/w) APEO bezogen auf die Polymerdispersion. APEO dienen bei Farben und Lacken als Emulgatoren und Dispergiermittel. Sie dienen dazu die Bindemittel zu emulgieren und die Pigmente zu dispergieren, außerdem halten sie Dispersionsfarben lagerstabil [233, 400]. APEO werden häufig zum Stabilisieren von Latexpartikeln eingesetzt, dabei fast ausschließlich in Verbindung mit anionischen Tensiden [400]. Zur Stabilisierung von Dispersionen werden APEO mit $\bar{n}_{EO} = 15-70$ verwendet [305, 400]. Als Benetzungsmittel in Fertigfarben sind APEO mit $\bar{n}_{EO} = 7-10$ typisch [400]. Von den APEO hat NP10EO in der europäischen Lackindustrie die größte Verbreitung [233]. Ferner dienen APEO als Netzmittel beim Mahlen von Pigmenten, als Glanzgeber und als Verlaufmittel [233]. Bei der Herstellung von Schaumgummi werden sie als Schaumhilfsmittel eingesetzt [233].

2.2.2.4 Hilfsmittel für die Zellstoff- und Papierindustrie

Um bei der Papierherstellung eine bessere Stoffrückhaltung auf der Papiermaschine zu erlangen und die Entwässerung des Papierstoffs zu beschleunigen, werden Retentionshilfsmittel, z. B. kationische Polyacrylamide, verwendet, die APEO als Emulgatoren enthalten

können, wenn es sich um Dispersions- bzw. Emulsionsprodukte handelt [233]. APEO können auch als Hilfsmittel beim Holzaufschluss, bei der Herstellung von saugfähigem Papier und in Klebstoffen zum Einsatz kommen [400]. Weitere Verwendungsbereiche sind die Druckfarbenentfernung im Abwasser und das Waschen von Naßfilz [400].

2.2.2.5 Schmierstoffe und Öle

In der Metallverarbeitung können APEO in Kühlschmierstoffen enthalten sein, die zum Schneiden, Zerspanen, Schleifen und Umformen benötigt werden [233,400]. APEO enthaltende, wassermischbare Metallbearbeitungsöle werden mit durchschnittlich 3–4 % (w/w) APEO als Emulgator formuliert [233]. In nichtwassermischbaren Bearbeitungsölen können APEO als Additive (höchstens 2 % (w/w) Anteil) zugesetzt werden, damit sie diese Öle emulgierbar machen und somit die an die Metallbearbeitung anschließende Metallreinigung erleichtern [233]. APEO können auch in sonstigen Schmier- und Hydraulikölen oder in Motorenölen als Additive enthalten sein [233].

2.2.2.6 Bauchemikalien

Im Bereich der Bauchemie werden APEO in Betonzusatzmitteln, in Formtrennmitteln und in Bitumen- und Wachsemulsionen eingesetzt [233,40]. In Betonzusatzmitteln, die für frost- und tausalzbeständige Betonbauwerke wie Brücken und Fahrbahnen benötigt werden, sind APEO als Luftporenbildner geeignet [233,40]. APEO können in Formtrennmitteln auf Basis von Mineralölen, pflanzlichen Ölen, Emulsionen oder Polymeren mit Gehalten von 1 bis 5 % (w/w) als Formulierungshilfsstoffe eingesetzt werden [233]. Bitumenemulsionen, die als Anstrich- und Abdichtmittel verwendet werden, lassen sich mit APEO-Tensiden formulieren [233,40].

2.2.2.7 Agrochemikalien

In Pflanzenschutzmitteln können APEO als Beistoffe z. B. die Funktion von Benetzungsmitteln, Dispergiermitteln oder Emulgiermitteln übernehmen [233,40,400]. Auf die verschiedenen Funktionen der APEO in Pflanzenschutzmitteln wird nachfolgend in **Abschnitt 2.3** näher eingegangen.

2.2.2.8 Sonstige Anwendungen

APEO können in Staubbindemitteln im Kohlebergbau als Benetzungsmittel dienen [233,400]. Ebenfalls als Benetzungsmittel sind sie zum Einsatz in der Keramikindustrie und

in Gießereien geeignet [400]. In der marinen Ölförderung spielen APEO als Offshore-Chemikalien eine Rolle [233]. Sie sind z.B. als Detergentien, Emulgatoren, Demulgatoren und im Zusammenhang mit Flokkulationsmitteln zum Aufbrechen von Öl-in-Wasser-Emulsionen, zur Partikelabscheidung aus Öl/Wasser-Gemischen, bei der Viskositätseinstellung von Injektionswasser, in Korrosionsschutzmitteln und in Reinigungsmitteln für Tanks, Ausrüstungen, Werkzeugen und Plattformen verbreitet [233]. APEO können auch in Flockungshilfsmitteln, die in Form von Dispersionen bzw. Emulsionen bei der Abwasserreinigung zugegeben werden, enthalten sein [233]. Auch medizinische und veterinärmedizinische APEO-haltige Produkte sind bekannt [233].

Einen Überblick über die in Deutschland verwendeten Mengen an Nonylphenoethoxylat, dem bedeutendsten APEO-Tensid, gibt die **Abbildung 2.4**:

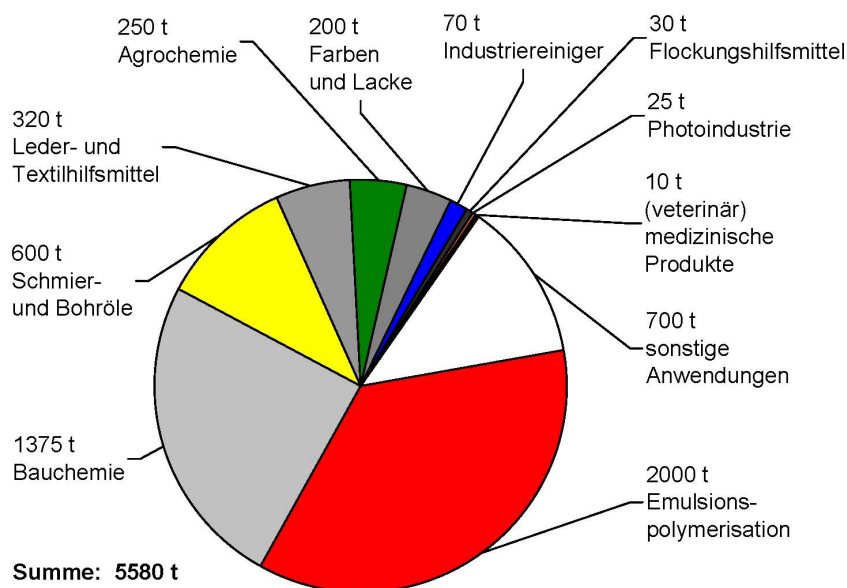


Abbildung 2.4: In Deutschland im Jahr 1999 verwendete Nonylphenoethoxylatmengen (Quelle: [40]).

Da in Europa seit 2003 nicht mehr als 0,1 % (w/w) NPEO in Pestizid- und Biozidformulierungen, in allen Zubereitungen, die zum Zweck der industriellen und gewerblichen sowie Haushaltsreinigung dienen oder bei der Textil- und Lederverarbeitung, als Emulgator in Melkfett, bei der Metallverarbeitung, bei der Zellstoff- und Papierherstellung und als kosmetische Mittel oder sonstige Körperpflegemittel angewendet werden, enthalten sein dürfen [125], ist eine deutliche Veränderung der Verbrauchsmengen von NPEO in diesen Bereichen sehr wahrscheinlich. Es liegen dazu aber keine aktuellen Zahlen vor.

2.3 Alkylphenoethoxylate als Formulierungshilfsstoffe von Pflanzenschutzmitteln

2.3.1 Die Funktion von Formulierungshilfsstoffen in Pflanzenschutzmitteln

Pflanzenschutzmittel (PSM) werden üblicherweise in zubereiteter Form, die als Formulierung bezeichnet wird, in den Handel gebracht. Daher enthalten PSM neben einem oder mehreren Wirkstoffen auch Beistoffe (Formulierungshilfsstoffe), die zahlreiche Funktionen übernehmen können und der Formulierung weitere, für die Anwendung nötige Eigenschaften verleihen (s. **Tab. 2.7**) [54]. Für Hilfsstoffe von Pflanzenschutzmitteln hatte im Jahr

Tabelle 2.7: Klassifizierung von Beistoffen in Pflanzenschutzmitteln gemäß ihrer Funktion durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (Stand: Januar 2005 [52]).

BVL-Code	Funktion	BVL-Code	Funktion
A	Antioxidant	N	Netzmittel
B	Brechmittel (Emetikum)	O	Synergist
C	Dünger, Nährstoff	P	Parfum, Deodorant
D	Dispergiermittel	Q	Treibgas
E	Emulgator	R	Riechstoff (Repellent)
F	Farbstoff	S	Stabilisator
G	Frostschutzmittel	T	Trägerstoff
H	Haftmittel	U	Schmiermittel
I	Verdickungsmittel	V	Schaumverminderer
J	Antiverbackungsmittel	W	Safener
K	Konservierungsmittel	X	Sonstiges (spezifizieren)
L	Lösungsmittel	Y	Puffer
M	Fließmittel	Z	Bindemittel

2001 der Weltmarkt auf der Vertrieberebene einen Umfang von 940 Millionen US\$, wovon 48 % auf Nordamerika, 18 % auf Europa und 17 % auf Lateinamerika fielen [17]. Konservative Schätzungen gehen von einem jährlichen Wachstum von 3 % aus [17]. Mit ca. 80–90 % dient der weitaus größte Teil der Hilfsstoffe zur Formulierung von Herbiziden. Als wichtigste chemische Klassen von Formulierungshilfsstoffen sind in der Reihenfolge ihrer kommerziellen Bedeutung Tenside, Öle (Mineralöle oder Pflanzenöle), Polymere,

polymerbildende Verbindungen und anorganische Salze zu nennen [171].

Der Einsatz von Beistoffen in solchen agrochemischen Formulierungen hat immer den Zweck, eine auf die jeweilige Anwendung optimal abgestimmte Ausbringung, Verteilung und Entfaltung der Wirkstoffe zu ermöglichen. Ferner können sie dafür sorgen, dass die PSM leichter und sicherer zu handhaben sind, oder sie erhöhen die Lagerstabilität. In den meisten Fällen werden Pestizide als Sprühnebel wasserbasierender Lösungen, Emulsionen oder Suspensionen auf das Laub aufgebracht [172]. Dazu wird die Formulierung im Spritzmitteltank mit Wasser verdünnt. Neben den Formulierungshilfsstoffen (built-in-adjuvants) können die Eigenschaften der Spritzmittel oder die Wirkung der PSM zusätzlich durch Zugabe von Zusatzstoffen (tank-mix-adjuvants) in den Spritzmitteltank verändert werden. Dabei hängt die Art und die Menge der insgesamt verwendeten Hilfsstoffe in den Spritzmitteln unter anderen vom PSM-Typ (z. B. Fungizid, Herbizid oder Insektizid), von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Wirkstoffes (z. B. wasserlöslich oder wasserunlöslich), der Art und Weise der Wirkstoffentfaltung (z. B. systemisch oder nicht-systemisch) und vom Typ der Formulierung (z. B. emulgierbares Konzentrat, Suspensionskonzentrat oder wasserverdünnbares Pulver) ab. Der Ort, an dem der Hilfsstoff seine Wirksamkeit entfalten soll, ist ebenfalls zu berücksichtigen. Dieser könnte etwa nur im Spritzmitteltank, im Sprühmitteltropfen, im Sprühniederschlag oder innerhalb des Zielorganismus nach der Penetration sein [171]. Der Einfluss von Beistoffen auf die biologische Wirksamkeit von Pestizidformulierungen ist jedoch sehr komplex, da die letztendlich beobachteten Wirksamkeitseffekte von zahlreichen Faktoren abhängen, die die vielen Schritte und Prozesse vom Spritzmitteltank bis hin zum Wirkort im Zielorganismus, also in der Pflanze, im Pathogen oder im Insekt, beinhalten [357]. Beistoffe haben unter anderem Auswirkungen auf [126, 172, 356, 357]

die Haltbarkeit der Formulierung,

die Stabilität von PSM-Emulsionen bzw. Suspensionen,

mögliche Inkompatibilitäten von Wirkstoffen und Beistoffen,

die Löslichkeit der Wirkstoffe in der Sprühlösung,

die Schaumbildung des Spritzmittels,

die Oberflächenspannung der Sprühlösung,

die Tröpfchendrift beim Versprühen des Spritzmittels,

die Spreitung, die Größe, die Verteilung sowie die Verflüchtigung der Spritzmitteltröpfchen,

die Benetzung des Laubes,

die Adhäsion der Wirkstoffe an der Lauboberfläche,

die Retention der Wirkstoffe auf dem Laub und

die Penetration der Wirkstoffe durch die Blattoberhaut.

2.3.2 Die Verwendung von Tensiden in Pflanzenschutzmittelformulierungen

Die Fülle der als Formulierungshilfs- bzw. Zusatzstoffe angewendeten Tenside (s. **Tab. 2.8**) ist groß. So handelt es sich bei 510 von den zur Zeit 1430 in Deutschland als Beistoffe zugelassenen Produkten um Tenside.³ Der größte Teil des PSM-Hilfsstoffmarktes wird dabei von nichtionischen Tensiden dominiert [172]. In den USA machen diese beispielsweise 24 % des Gesamtmarktes aus [17].

Tabelle 2.8: In Pflanzenschutzmitteln als Hilfsstoffe verwendete Tenside (aus [81]).

Tensidtyp	Eingesetzte Tenside
Anionisch	Alkylbenzolsulfonate, Alkylsulfate und —ethoxysulfate, Sulfosuccinate, Phosphatester, Taurate, Alkyl-naphthalinsulfonate, Ligninsulfonate
Nichtionisch	Alkylphenoethoxylate, langkettige Alkanolethoxylate, langkettige Alkylaminethoxylate, Sorbitanester und —ethoxylate, Kastoröl-Ethoxylate, Ethoxylat/Propoxylat-Copolymere, Acrylcopolymere, Silikon/Polyether-Copolymere, Fluorosilikone
Kationisch	Quarternäre Ammoniumsalze
Amphoter	<i>n</i> -Alkylbetaine

Tenside können direkt als Beistoffe in Pestizidformulierungen auftreten und/oder sie werden als Zusatzstoffe vor dem Einsatz der Tankmischung zugefügt [171]. Dabei machen sie selten mehr als 1 % (*w/w*) des gesamten verwendeten Spritzmittels aus [81]. Sie dienen in PSM-Formulierungen z. B. als Netzmittel, Suspensionsmittel oder Emulgatoren [66]. Die eingesetzten Tenside können neben genannter noch eine Reihe weiterer Funktionen übernehmen, da eine ganze Fülle physikalischer Eigenschaften durch grenzflächenaktive

³Stand: April 2006 [51] (Die jeweils aktuelle Liste aller Beistoffe in für Deutschland zugelassenen Pflanzenschutzmitteln wird vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit im Internet unter <http://www.bvl.bund.de> veröffentlicht.)

Zusätze beeinflusst werden. Hierunter fallen das Spreiten und Trocknen der versprühten Tröpfchen, die Hygroskopizität sowie Veränderungen der Permeabilität des kutikularen Wachses auf der Blattoberhaut [93].

Die Auswahl des richtigen Tensidsystems, das häufig aus einem Gemisch unterschiedlicher Tenside besteht, ist für die Formulierung von Pflanzenschutzmitteln entscheidend [368]. Ein wichtiges Kriterium stellen die physikochemischen Eigenschaften der PSM-Wirkstoffe dar, da sie den Formulierungstyp bestimmen (s. Abb. 2.5).

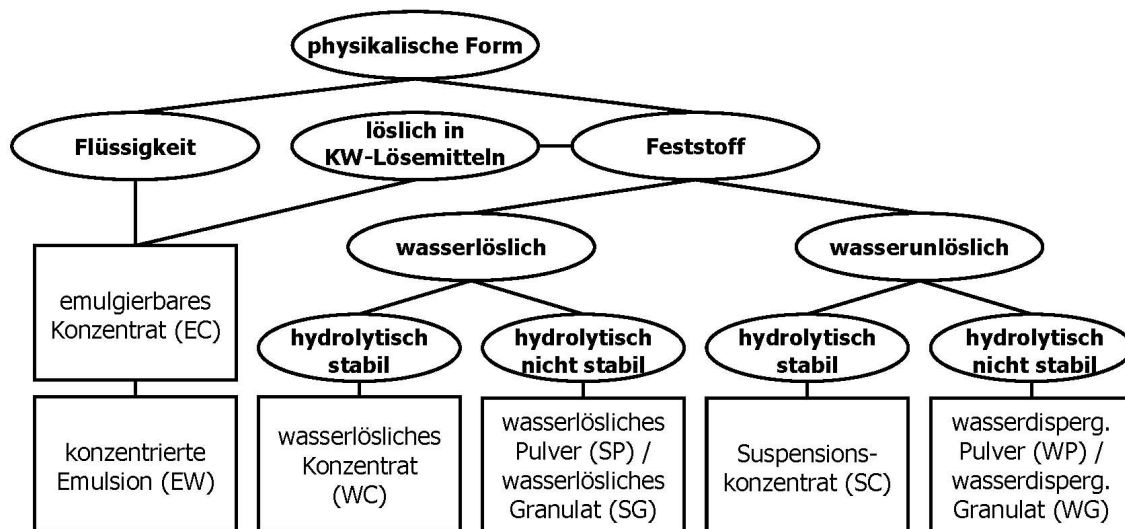


Abbildung 2.5: Einfluß der physikochemischen Eigenschaften der PSM-Wirkstoffe auf die Möglichkeiten der Formulierung (nach [357]).

2.3.2.1 Tenside als Emulgatoren oder Suspensionsmittel

Da viele PSM-Wirkstoffe nicht oder kaum wasserlöslich sind, erlangen Tenside aufgrund ihrer Funktion als Emulgatoren oder Suspensionsmittel große Bedeutung als Beistoffe in PSM-Formulierungen. Eine große Zahl von Agrochemikalien werden dabei als emulgierbare Konzentrate (EC), die die wichtigste Anwendung von APEO in PSM darstellen, formuliert [233, 40]. Eine solche Formulierung bildet, wenn sie Wasser zugesetzt wird, spontan oder durch mäßiges Rühren eine Öl-in-Wasser-Emulsion [368]. EC werden durch Zusatz von Tensiden direkt zum PSM erhalten, wenn es sich bei dem Pestizid um eine Flüssigkeit von relativ geringer Viskosität handelt [368]. Im Fall von festen oder flüssigen, hochviskosen PSM werden diese in Kohlenwasserstoffen gelöst und mit Tensiden formuliert [368]. Als Lösemittel sind z. B. Xylol und Cyclohexanon sowie Aromatengemische oder andere Kohlenwasserstoffgemische, die meistens aus Mineralöldestillaten stammen, gebräuchlich [73, 183, 323]. Zur EC-Formulierung werden Emulgatorkombinationen aus einem nichtionischen und einem anionischen Tensid verwendet [73, 233, 368]. In der Regel dienen

Alkylbenzolsulfonate in Form ihrer Natrium-, Calcium-, Magnesium- oder Triethanolaminsalze als anionische Tenside [72, 73, 368]. Am häufigsten eingesetzt wird hierfür Calciumdodecylbenzolsulfonat [73]. Die Palette der verwendeten nichtionischen Tenside ist größer und umfasst z. B. APEO, Tristyrylphenoethoxylate (TSPEO), Kastoröl-Ethoxylate, Fettalkoholethoxylate und Oxyethylen/Oxypropylen(EO/PO)-Blockpolymere [73]. In solchen Formulierungen reichen gewöhnlich Emulgatorkonzentrationen von 5 % (w/w) für eine spontane Bildung einer für die Dauer der Aufbringung stabilen Emulsion [368]. Die Spontanität der Emulsionsbildung und die Stabilität der gebildeten Emulsion hängen stark von der Ethoxylatkettenlänge des nichtionischen Tensids und der Verzweigung der Alkylkette sowohl im anionischen als auch im nichtionischen Tensidmolekül ab, so dass der Qualitätskontrolle der verwendeten Tenside starke Bedeutung zukommt [368]. Wesentliche Faktoren für die Wahl des richtigen Tensidsystems sind die Wasserhärte, die Temperatur sowie die Eigenschaften des Wirkstoffes und des Lösemittels. Wenn für harte Wässer keine genügende Stabilität der Emulsion durch Optimieren des Verhältnisses vom nichtionischen zum anionischen Tensid erlangt werden kann, findet häufig eine weitere, dritte Emulgatorkomponente Verwendung. Solche Coemulgatoren sind in vielen Fällen EO/PO-Blockpolymere [73].

Eine weitere wichtige Formulierungsform stellen die Suspensionskonzentrate (SC) dar. Leistungsfähige Dispergiermittel vom ionischen oder nichtionischen Tensidtyp sowie nichtionische Polymere oder Polyelektrolyte verhindern in SC-Formulierungen die Aggregation der suspendierten Partikel, um Stabilität gegenüber einer irreversiblen Flockulation zu gewährleisten [368]. Diese Dispergiermittel müssen stark auf der Partikeloberfläche adsorbiert sein und diese vollständig bedecken. Durch geladene Dispergiermittel wird eine Flockulation verhindert, da aufgrund der Bildung einer elektrischen Doppelschicht abstoßenden Kräfte wirksam werden. Bei Verwendung von nichtionischen Tensiden oder Makromolekülen wird eine Abstoßung zwischen den Partikeln aufgrund von sterischen Wechselwirkungen erreicht. Als ionische Tenside sind Natriumdodecylbenzolsulfonat oder Cetyltrimethylammoniumchlorid gebräuchlich. So formulierte PSM weisen jedoch einige Nachteile auf [368]. Häufig ist die Adsorption der ionischen Tenside auf der Partikeloberfläche nicht stark genug. Außerdem sind diese Systeme empfindlich gegenüber bivalenten Ionen wie Ca^{2+} oder Mg^{2+} . Nichtionische Tenside wie etwa APEO oder Alkoholethoxylate stellen eine bessere Alternative dar, da sie über hinreichend hydrophobe Gruppen verfügen, die für eine Adsorption sorgen. Ausreichend lange Polyoxyethylengruppen sorgen für eine angemessene Energiebarriere, die eine Aggregation der Partikel unterbindet [368]. Polyelektrolyte stellen die dritte Klasse von Dispergiermittel dar, die in SC-Formulierungen verwendet werden. Polyelektrolytsysteme zeigen sowohl elektrostatische als auch sterische Abstoßungskräfte. Die beiden prominentesten Vertreter dieser Klasse sind sulfonier-

te Naphthalininformaldehydkondensate und Ligninsulfonate [368]. Desweiteren sind in der Klasse der Polymere Hydroxyethylcellulose und Xanthan in SC verbreitet [368].

2.3.2.2 Tenside als Spreitungsmittel, Netzmittel oder Haftvermittler

Neben der Tatsache, dass Tenside aufgrund ihrer dispergierenden Eigenschaften erst eine Anwendung von wasserunlöslichen PSM in Form von wässrigen Spritzmitteln ermöglicht, sollen Tenside auch die Effizienz von Spritzmitteln steigern. An sich ist das Versprühen wasserbasierender Spritzmittel als Ausbringungsform eher ineffizient, da nur der geringste Teil der angewendeten Dosis tatsächlich auf den angestrebten Stellen niedergeschlagen wird [172]. Als die wichtigsten Gründe für die Wirkstoffverluste auf dem Weg vom Zerstäuben über die Tröpfchenretention bis hin zur Abscheidung werden die Abtrift und das Verflüchtigen während des Fluges sowie insbesondere das Abprallen und Ablaufen der Tröpfchen vom Laub gesehen [172]. Diesen Verlusten soll durch Formulieren der Spritzmittel mit Tensiden entgegengewirkt werden. Mit Hilfe dieser oberflächenaktiven Stoffe sollen die Tröpfchengröße des Sprühnebels, das Benetzen der Blattoberfläche, das Spreiten und die Rückhaltung auf der Blattoberfläche sowie die Abscheidung der Wirkstoffe auf dem Blatt positiv beeinflusst werden [172, 173, 205, 358].

Ohne Zusatz von Modifiern zum Spritzmittel zerplatzen Tröpfchen, die größer als $300\ \mu\text{m}$ im Durchmesser sind, in der Regel beim Aufprall auf schwer benetzbaren Blattoberflächen, so dass ein erheblicher Teil abprallt und verloren geht [172]. Für Tröpfchen mit einem Durchmesser von ca. $100\ \mu\text{m}$ hingegen ist ein vollständiges Verbleiben auf der Lauboberfläche nach dem Aufprall wahrscheinlich [172]. Daher soll durch Zusatz von Tensiden eine Verringerung der Tröpfchengröße oder eine Verbesserung der Spreitung erreicht werden. Das Spektrum der Tröpfchengrößenverteilung im Sprühnebel wässriger PSM-Spritzmittel kann durch Zusatz von Tensiden hin zu kleineren Durchmessern verschoben werden, was eine gleichmäßigere Verteilung und bessere Spreitung auf dem Laub zur Folge hat. So konnte für dasselbe Spritzgerät bei der Anwendung einer 3,3 %-igen wässrigen Lösung von Tillmaster[®], einer Herbizidformulierung mit 21 % (w/w) NPEO, im Vergleich zu Wasser der Anteil der Tröpfchen $< 100\ \mu\text{m}$ um mehr als 13 % gesteigert und der Anteil der Tröpfchen $> 300\ \mu\text{m}$ um ca. 12 % verringert werden [79]. Bei der Verwendung der gebräuchlichen Alkohol- und Nonylphenoethoxylate nimmt deren Ethoxylierungsgrad großen Einfluß auf die Effizienz der Spritzmittelabscheidung auf schwer zu benetzendem Laub (z. B. Raps oder Wein). So sind Tenside mit $\bar{n}_{EO} < 10$ selbst bei hohen Konzentrationen kaum wirksam. Für \bar{n}_{EO} von 10 bis 20 erhöht sich die retentionssteigernde Wirkung mit zunehmender Konzentration [172]. Für leicht benetzbare Laub (z. B. Ackerbohnen, Zuckerrüben oder Kletten-Labkraut) werden solche Effekte nicht beobachtet [172].

Durch Untersuchungen an acht Reissorten mit sehr unterschiedlichen Charakteristi-

ken in der Blattmorphologie wurde der Zusammenhang zwischen der Benetzbarkeit und den Tenseideigenschaften für verschiedene, wichtige nichtionische Tenside von Chung und Kwon aufgezeigt [70]. Es ließ sich eine logarithmische Zunahme des Kontaktwinkels auf der Blattoberfläche mit steigender Oberflächenspannung feststellen. Für HLB-Werte von 12 bis 13 wurden die geringsten Oberflächenspannungen der Tenseide, die kleinsten Kontaktwinkel und die größten Adhensionskräfte beobachtet. Im Vergleich der Tensidgruppen zeigten NPEO und OPEO geringere Oberflächenspannungen und Kontaktwinkel sowie größere Adhensionskräfte als die Ethoxylate von Sorbitanen und polystyrolisierten Phenolen.

Die verbesserte Benetzbarkeit des Laubes resultierend in einer Steigerung der Wirkstoffaufnahme führt M. H. Leitch neben einer möglichen Penetrationsverbesserung als den wahrscheinlichsten Grund dafür an, dass die wachstumshemmende Wirkung von Chloromequat bei Hafer um mehr als 30 % durch Zusatz von APEO gesteigert wird [234].

Um den Zusammenhang zwischen dem Spreiten der Tropfen, deren Trocknungszeit und der Wirkstoffabsorption aufzuklären, wurden Untersuchungen an Winterweizen im dreiblättrigen Entwicklungsstand (14 Tage nach der Saat) mit ^{14}C -markiertem Glyphosat durchgeführt [93]. Für NPEO (Renex 688, $n_{w,EO} = 8$) läßt sich beispielsweise bei Gehalten oberhalb der CMC eine Verbesserung der Spreitung der Glyphosatlösungen auf den Blättern beobachtet. Dies geht mit der Reduktion der Trocknungszeit der Tropfen einher. Eine Verbesserung der Absorption kann jedoch lediglich bei einer Konzentration von 5 % (w/v) erreicht werden. Die ebenfalls untersuchten Gehalte von 0,05 und 0,5 % (w/v) bewirken sogar eine Verminderung der Absorption durch das Blatt.

Im Allgemeinen führt der Zusatz von NPEO zu Thifensulfuron bzw. Thifensulfuron-Methyl, einem Sulfonylharnstoff-Herbizid für den Sojabohnenanbau, zu einer Verbesserung der Unkrautbekämpfung [158, 308]. Eine Steigerung der Wirksamkeit von Thifensulfuron gegenüber der Samtpappel, der Efeu-Prunkwinde und dem weißen Gänsefuß kann durch Zusatz von X-77, einem NPEO-Tensid, erreicht werden, hängt aber sehr stark von der Temperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit ab [308]. Daten aus zweijährigen Gewächshaus- und Feldstudien mit 300 unterschiedlichen nichtionischen Tensiden zum Einsatz von Thifensulfuron-Methyl im Sojabohnenanbau zeigen auf, dass die selektive Bekämpfung der Samtpappel, des weißen Gänsefußes und der Gewöhnlichen Spitzklette im wesentlichen von der hydrophilen und lipophilen Charakteristik des Tensids abhängen [158]. Faktoren wie der Schmelzpunkt und das Wasserrückhaltevermögen des Tensids spielen ebenfalls eine Rolle, da sie die Wirkstoffabscheidung auf dem Laub beeinflussen. Optimale Parameter sind ein mittlerer bis hoher Ethoxyierungsgrad, ein mittlerer bis hoher HLB-Wert, ein mittlerer Schmelzpunkt und ein hohes Wasserrückhaltevermögen des Tensids [158]. Im Vergleich sind APEO, wie z.B. Triton X-100 (OPEO

mit $n_{w,EO} = 10$) oder Dodecylphenoletoxylate, wirksamer als Sorbitanfettsäureester, Diaminodiphenylether und Tetramethyldecyndiolethoxylate und weisen eine vergleichbare Effizienz wie Alkoholethoxylate und EO/PO-Blockpolymere auf. Sie sind jedoch weniger leistungsstark als Polyoxyethylensorbitanfettsäureester, Fettalkoholethoxylate und fluoriierte Alkanolethoxylate [158].

Hilfsstoffe können auch dazu dienen, die Regenbeständigkeit der ausgebrachten PSM zu erhöhen. So steigert der Zusatz von Lissapol[®], einem NPEO-Tensid, die Regenbeständigkeit der Sulfonylharnstoffherbizide Thifensulfuron und Tribenuron nach der Ausbringung auf weißem Senf [219]. NPEO ist jedoch weniger effektiv als Pflanzenöl oder Mineralölkonzentrat.

2.3.2.3 Tenside als Aktivierungsmittel

Wirken PSM systemisch, wie dies etwa für Herbizide gilt, und werden sie durch Besprühen des Laubes ausgebracht, spielt die Absorption der Wirkstoffe durch das Laub eine wichtige Rolle. Der Transport von Wasser und darin gelösten Stoffen — also z. B. auch von Herbiziden — durch die kutikulare Membran wird durch eine Barriere an der Grenzschicht zwischen Luft und Blattoberhaut, die aus unlöslichen Kutin und löslichen kutikularen Wachsen (Lipiden) besteht, beschränkt [126, 208, 322]. Die Diffusion durch diese Barriere stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Prozess bei der Aufnahme von Soluten durch das Laub dar [206, 207]. Wie gezeigt werden konnte, können Tenside die Blattoberhaut schnell und in substantiellen Mengen penetrieren [206, 322, 339]. Dabei wirken sie anscheinend unterstützend bei der Absorption von PSM-Wirkstoffen durch die Lauboberfläche. Beistoffe mit solcher Wirkungsweise werden als Aktivierungsmittel bzw. Penetrationsverbesserer bezeichnet [171]. Tenside, die üblicherweise als Aktivierungsmittel mit Konzentrationen von $1\text{--}5\text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ im Spritzmittel angewendet werden, sind Polyoxyethylenkondensate von Alkoholen, Alkylphenolen, substituierten Sorbitanen und Alkylaminen mit HLB-Werten von 10 bis 13 [205]. Wobei das Durchdringen der Kutikula von Tensiden gemeinsam mit den Wirkstoffen eine Grundvoraussetzung zu sein scheint, um die Absorption der Wirkstoffe zu erhöhen [339].

Kirkwood et al. [208] konnten zeigen, dass bei Farnkraut und in geringerem Maße auch bei der Vogelmiere die Aufnahme und die Translokation der beiden Herbizide Asulam und Diflufenican durch NPEO selektiv stimuliert werden. Dabei spielen sowohl die Polarität der Herbizide als auch der NPEO eine Rolle. Mit einem Optimum bei $n_{n,EO} = 8$ wurde durch Tenside mit geringer bis mittlerer Ethoxylatkettenlänge die Aufnahme des relativ hydrophilen Asulam gesteigert. Demgegenüber wurde die Absorption des lipophilen Diflufenican lediglich durch das lipophilste der getesteten NPEO ($n_{n,EO} = 4$) erhöht.

Die biologische Aktivität der Herbizide Alloxydim-Natrium, Fluazifop-Butyl und Tri-

benuron lässt sich durch Zusatz von APEO zum Spritzmittel steigern. Eine Erhöhung der Phytotoxizität von Alloxydim-Natrium und Fluazifop-Butyl beim weißem Senf sowie Tribenuron bei der Wintergerste lässt sich mit anwachsendem APEO-Gehalt im Spritzmittel beobachten [359]. Dabei liegt das Optimum der Hilfsstoffkonzentration im Spritzmittel bei ca. 1 %.

Untersuchungen mit isolierten Oberhäuten von Blättern (Pomeranze und Birne) und Früchten (Aubergine und Paprika), verschiedenen Tensiden und dem ^{14}C -markiertem Herbizid 2,4-D (2,4-Dichlorphenoxy[2- ^{14}C]essigsäure) haben gezeigt, dass Tenside die Permeabilität der Pflanzenkutikula sowohl für Wasser als auch für in Wasser gelöste Stoffe deutlich erhöhen können, indem sie Einfluss auf den Verteilungskoeffizienten und den Diffusionskoeffizienten nehmen [322]. Für gelöste Stoffe führen Tensidkonzentrationen oberhalb der CMC jedoch zu einer Verringerung der Permeabilität, wenn gebildete Mizellen mit den Soluten wechselwirken und somit ein zur Oberhaut konkurrierendes Sorptionskompartiment darstellen [322]. Für Paprika wird bei 25 °C beispielsweise die maximale 2,4-D-Permeabilität von Triton X-100, einem OPEO-Tensid mit einem Gewichtsmittel von $n_{w,EO} = 10$ Oxyethyleinheiten, bei einer Tensidkonzentrationen von 0,01 % (w/v), die knapp unterhalb der CMC von 0,019 % (w/v) liegt, erreicht [322]. Lösungen von ethoxylierten Triglyceriden, APEO und Sorbitanestern mit einer Tensidkonzentration von 1 % bewirken hingegen für die Wachstumsregulatoren 2,4-D und β -NAA (2-Naphthalenessigsäure) keine signifikante Verbesserung der Penetration durch die Blattoberfläche bei Apfellaub [373].

Für die Aktivität von Tensiden scheint das Vorhandensein von Oxyethylengruppen essenziell zu sein, da sogar Polyethylenglykol die Permeabilität erhöht, wohingegen Natriumdodecylsulfat diesbezüglich nahezu keine Aktivität zeigt [322]. So steigert beispielsweise eine 1 %-ige Lösung von Polyethylenglykol-200-Monolaurat die Penetration von 2,4-D und β -NAA durch die Blattoberfläche von Apfellaub signifikant [373]. Im Fall der Pomeranze sind OPEO weniger effektiv als beispielsweise Dodecyl- und Tridecylethoxylate sowie Polyoxyethylentalgfettsäureamine [322]. Die Ethoxylatkettenlänge hat deutlichen Einfluss auf die Aktivität, wobei jedoch kein direkter Zusammenhang mit den HLB-Werten erkennbar ist [322]. Tragen Tenside übermäßig große Ethoxylatketten, so verlieren sie ihre Aktivität aufgrund ihrer verminderten Fähigkeit, die Blattoberhaut zu durchdringen. Die verminderte Fähigkeit, die Blattoberhaut zu durchdringen, wird zum einen auf die Molekülgröße zurückgeführt [322]. Zum anderen wird die Ursache in der zu hohen Polarität gesehen, die ein Penetrieren des epikutikularen Wachses verhindert [48].

Einen Überblick, welche Rolle den Tensiden bei der Wechselwirkung zwischen Tensid, Pestizid und Pflanze zukommt und welche Wirkmechanismen dabei wichtig sind, gibt Kirkwood [205, 206].

2.4 Umweltverhalten von Alkylphenoethoxylaten

Neben zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen sind eine ganze Reihe unterschiedlicher Übersichtsartikel publiziert worden, die sich mit dem Umweltverhalten von APEO und deren Abbauprodukten beschäftigen. Es werden beispielsweise von Bennie [37], Cserháti [87], Maguire [246], Naylor [278], Servos [327], Staples et al. [351], Thiele et al. [376], Warhurst [399], White [401] und Ying et al. [409] verschiedene Aspekte wie die Toxizität, die östrogene Wirkung, die Bioakkumulation, die Biodegradierung und die Persistenz von APEO sowie von relevanten Metaboliten behandelt. Dabei stellen auch die Verbreitung der APEO und ihrer Abbauprodukte in der aquatischen Umwelt sowie ihr Verhalten bei der biologischen Abwasserreinigung wichtige Gesichtspunkte dar. Eine Bewertung der gewonnenen Daten ist ein wichtiger Bestandteil für eine Risikoabschätzung der Folgen des APEO-Gebrauches.

2.4.1 Emissionsquellen und Emissionswege von Alkylphenol-ethoxylaten

Das Vorkommen von Alkylphenoethoxylaten und deren Metaboliten in der Umwelt ist ausschließlich auf menschliche Aktivitäten zurückzuführen, da es sich hierbei um anthropogene Stoffe handelt. Die Emissionsquellen von APEO können sehr unterschiedlich sein. In **Abbildung 2.6** sind für Europa die kontinentalen Emissionen von NPEO, dem bedeutendsten APEO, aus unterschiedliche Quellen dargestellt. Bei den überwiegend zu Produkten verarbeiteten APEO handelt es sich um gut wasserlösliche Verbindungen, so dass der Wasserpfad den wichtigsten Weg für einen Eintrag in die Umwelt darstellt.

APEO können einerseits durch den bestimmungsgemäßen Gebrauch von APEO-haltigen Produkten direkt in die Umwelt gelangen, z. B. bei der Ausbringung von Pflanzenschutzmitteln oder der umweltoffenen Anwendung von bauchemischen Produkten [40, 124, 233]. Es kann dann ein Eintrag in Böden, Oberflächengewässern oder Grundwasser erfolgen. Der Einsatz von Offshore-Chemikalien führt ebenfalls zu einer direkten Umweltbelastung. Diese stellen eine mögliche Quelle für die Belastung mariner Gewässer und Sedimente dar [40, 124, 233]. Andererseits können abwassergängige APEO-haltige Produkte zu einer indirekten Belastung von Oberflächengewässern über Kläranlagen führen, wenn es zu keinem vollständigen APEO-Abbau in industriellen und kommunalen Abwässern kommt. Da die Polyoxyethylengruppe der APEO jedoch relativ leicht bei der Abwasserbehandlung abgebaut wird (s. a. **Abs. 2.4.2**), stellen Kläranlagen vor allem Emissionsquellen für Alkylphenole und andere APEO-Abbauprodukte dar. Als die wichtigsten Quellen, die zu einer Emission von APEO über Abwässer führen, sind in der Reihenfolge ihrer Bedeutung

die industrielle und gewerbliche Reinigung, die Textilverarbeitung (auch über den Import von Textilien), die Lederproduktion, die Zellstoffindustrie sowie die Metallgewinnung und –verarbeitung zu nennen [40, 124, 233].

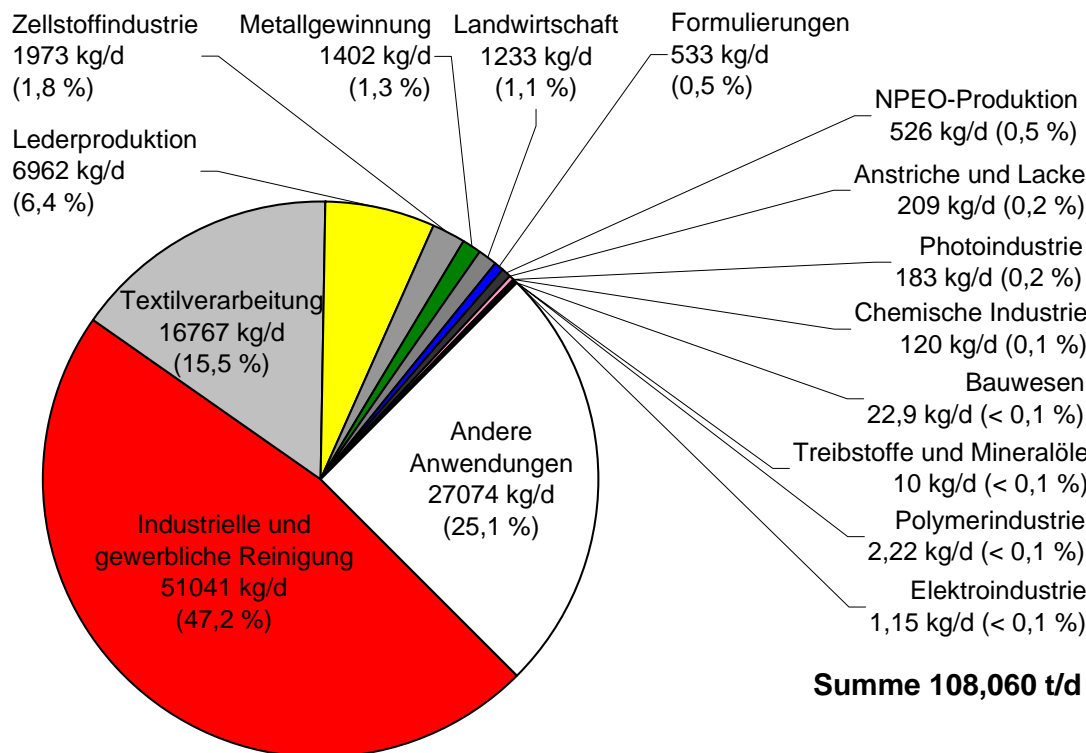


Abbildung 2.6: Abschätzung der kontinentalen Emissionen von Nonylphenolethoxylat für das Jahr 2002 innerhalb Europas (Daten aus [124]).

2.4.2 Biologischer Abbau von Alkylphenolethoxylaten und ihr Verhalten bei der Abwasserbehandlung

Im Gegensatz zu Alkoholethoxylaten werden APEO nicht so einfach und nicht immer vollständig biologisch abgebaut [175, 246, 296, 401]. Anhand von Laborscreeningtests sind APEO unter anaeroben Bedingungen als schwer abbaubar eingestuft [246, 296]. Sie werden häufig in solchen Tests nur unvollständig abgebaut [156, 246]. Bei aeroben Verhältnissen unterliegen sie zwar wesentlicher primärer Biodegradierung [175, 296], sind aber in Laborversuchen nicht immer vollständig abbaubar [246, 296]. Der vollständige biologische Abbaupfad ist teilweise noch unklar [175]. Dennoch besteht kein Zweifel daran, dass solche Verbindungen vollständig biologisch abgebaut werden können, auch wenn die bei der Biodegradierung gebildeten Metaboliten deutlich persistenter sind als die ursprünglichen APEO [246].

Es wurde generell angenommen, dass die Biodegradierung mit einer ω -Oxidierung der Polyoxyethylengruppe startet, die zu einer progressiven Verkürzung der Ethoxylatkette führt (s. a. **Abb. 2.7**, S. 35) [212, 246, 296, 388, 409]. Der schrittweise Abbau der Ethoxylatgruppe führt zur Bildung kurzkettiger APEO, hauptsächlich AP(EO)_1 , AP(EO)_2 und AP(EO)_3 [175, 212, 249, 296, 409]. Weitere Biotransformation über eine Oxidation der Ethoxylatkette führt zu Alkylphenoxyethoxyessigsäure (APE_2C) und Alkylphenoxyessigsäure (APE_1C) und schließlich zu Alkylphenol (AP) [175, 212, 296, 372, 376, 388].

Versuche mit aus Klärschlamm isolierten Reinkulturen haben beispielsweise gezeigt, dass *Pseudomonas putida* [190] und *Pseudomonas* sp. strain TR01 [248] NPEO bis zum NP(EO)_2 abbauen. Es konnte nachgewiesen werden, dass der Abbau durch sukzessive Verkürzung der Polyoxyethylengruppe erfolgt. Als weiterer Metabolit beim NPEO-Abbau durch *Pseudomonas* sp. strain TR01 konnte auch Nonylphenoxyethoxyessigsäure (NPE_2C) identifiziert werden [248]. Für OPEO wurde ähnliches bei Abbauprobeversuchen mit einer Bakteriengesellschaft, die aus einem mit Abwässern verunreinigten Küstengewässer entnommen wurde, festgestellt [281]. Innerhalb von 30 Tagen wurden mehr als 99 % OPEO abgebaut, wobei es zu einer Akkumulation von OP(EO)_2 kam. Dabei waren vier der isolierten Bakterienstämme, die der Gattung *Pseudomonas* angehörten und marinen Ursprungs waren, in der Lage, längerkettige OPEO bis zu OP(EO)_4 und OP(EO)_3 abzubauen. Zwei weitere marine Stämme hatten die Fähigkeit OPEO mit $n_{\text{EO}} \leq 5$ bis zum OP(EO)_2 zu degradieren, jedoch keine längerkettigen OPEO. In anderen Laborversuchen mit bakteriellen Mischkulturen konnte gezeigt werden, dass für kurzkettige NPEO und OPEO ($n_{\text{EO}} = 1-3$) der wichtigste aerobe Transformationsprozess in der Carboxylierung der terminalen Alkoholgruppe besteht [11]. Bis zu 90 % der NPEO wurden zu Alkylphenoylethoxycarboxylaten (APEC) verstoffwechselt. Nonylphenoylethoxycarboxylate (NPEC) als Schlüsselintermediate beim NPEO-Abbau wurden sowohl in unbehandeltem [134, 142, 252, 258, 303, 309, 334] als auch behandeltem Abwasser [29, 58, 142, 230, 252, 258, 303, 324], in Klärschlamm [58, 135, 224, 230, 258, 290, 303], in Sedimenten [293, 302] sowie in Oberflächenwasser [29, 134, 256, 293] und Meerwasser [256] identifiziert. Octylphenoylethoxycarboxylate (OPEC) als die analogen OPEO-Metaboliten wurden ebenfalls in behandeltem Abwasser nachgewiesen [303]. Die Ergebnisse von Versuchen mit NPEO in Flusswasser nach dem sogenannten „river die-away test“ haben gezeigt, dass der grundlegende Mechanismus bei der Biodegradierung in einer Verkürzung der Polyoxyethylengruppe bis zur Bildung von NP(EO)_2 besteht, die von einer anschließenden, terminalen Oxidation unter Bildung von NPE_2C gefolgt wird [250]. Nonylphenoxyessigsäure (NPE_1C) wird dann aus NPE_2C gebildet. In Abhängigkeit von der Temperatur variierte die primäre Biodegradierung von 96 % bei 25 °C bis zu 68 % bei 7 °C. Untersuchungen in Kläranlagen der Schweiz [7], Spaniens [58] und Japans [142] haben gezeigt, dass

bei der mechanisch-biologischen Abwasserreinigung NPEO mit einer Anzahl von $\bar{n}_{EO} = 3$ bis $\bar{n}_{EO} = 20$ Oxyethylengruppen effektiv eliminiert werden, dabei werden jedoch die rekalkitranten Metaboliten $NP(EO)_1$ und $NP(EO)_2$ sowie NPE_1C und NPE_2C als auch NP gebildet. Es wurde angenommen, dass APE_1C und APE_2C die persistentesten Metaboliten sind, die unter aeroben Bedingungen gebildet werden, während AP meistens bei anaeroben Verhältnissen auftritt [175, 296].

Unter methanogenen Bedingungen führt nämlich der Abbau von $NP(EO)_1$ und $NP(EO)_2$ in Faulschlamm, deponiertem Hausmüll und deponiertem Klärschlamm zu NP [119]. Der aromatische Ring bleibt bei solchen Abbauprozessen intakt, so dass NP als der rekalkitranteste Metabolit beim anaeroben Abbau angesehen werden kann [119, 148]. Dafür spricht auch die Tatsache, dass NP in Klärschlamm [58, 164, 290] und Sedimenten [129, 293, 300, 302] als mengenmäßig sehr wichtiges Abbauprodukt von NPEO auftrat und dass NP in mit Klärschlamm bzw. Klärschlammkompost langjährig behandelten Böden nachgewiesen werden konnte [189].

Es hat sich jedoch gezeigt, dass dieses Bild der Biodegradierung von APEO unvollständig ist. Jonkers et al. [194] konnten in kinetischen Studien, die zum biologischen, aeroben NPEO-Abbau in einem Laborbioreaktor mit Flusswasser durchgeführt wurden, mittels Flüssigkeitschromatographie-Elektronenspraytandemmassenspektrometrie (LC-ESI-MS/MS) auch langkettige Nonylphenoxycarboxylate (NPEC) identifizieren. Dies kann als Beweis für eine primäre Biodegradierung über eine ω -Carboxylierung der Polyoxyethylengruppe angesehen werden. Zumal $NP(EO)_2$ nur in geringen Mengen gebildet wurde. Maki et al. [247] konnten bei NPEO-Abbauversuchen mit mikrobiellen Konsortien aus Flusswasser überhaupt kein $NP(EO)_1$ und $NP(EO)_2$ nachweisen. Nur NPE_1C neben wenig NPE_2C ließen sich als Metaboliten identifizieren. OPEO-Abbauversuche von Sato et al. [317, 318] mit Reinkulturen von Pseudomonaden, die teilweise in ^{18}O -markiertem Wasser durchgeführt wurden, beweisen ebenfalls eindeutig, dass eine Biodegradierung ausschließlich über eine ω -Carboxylierung der Polyoxyethylengruppe erfolgen kann, da nur eine Inkorporation von ^{18}O in die Carboxygruppe beobachtet wurde, jedoch nicht in kurzkettige OPEO. Die primär gebildeten, langkettigen APEC werden dann weiter zu kurzkettigen APEC abgebaut [194, 317, 318]. In aerob behandeltem, sekundärem Klärschlamm aus der Papierverarbeitung konnten von Field und Reed [135] neben NPE_1C und NPE_2C auch NPE_3C und NPE_4C nachgewiesen werden. In derselben Untersuchung wurde ebenfalls festgestellt, dass eine Anreicherung der ortho-Isomere von NPE_1C , NPE_2C und NPE_3C in anaerob behandeltem Klärschlamm stattfindet, was für einen Erschwerten biologischen Abbau dieser Isomere spricht.

Auch dicarboxylierte Metaboliten, Carboxyalkylphenolethoxycarboxylate (CAPEC), wurden von Jonkers et al. [194] neben NPEC identifiziert. Beide, NPEC und CAPEC,

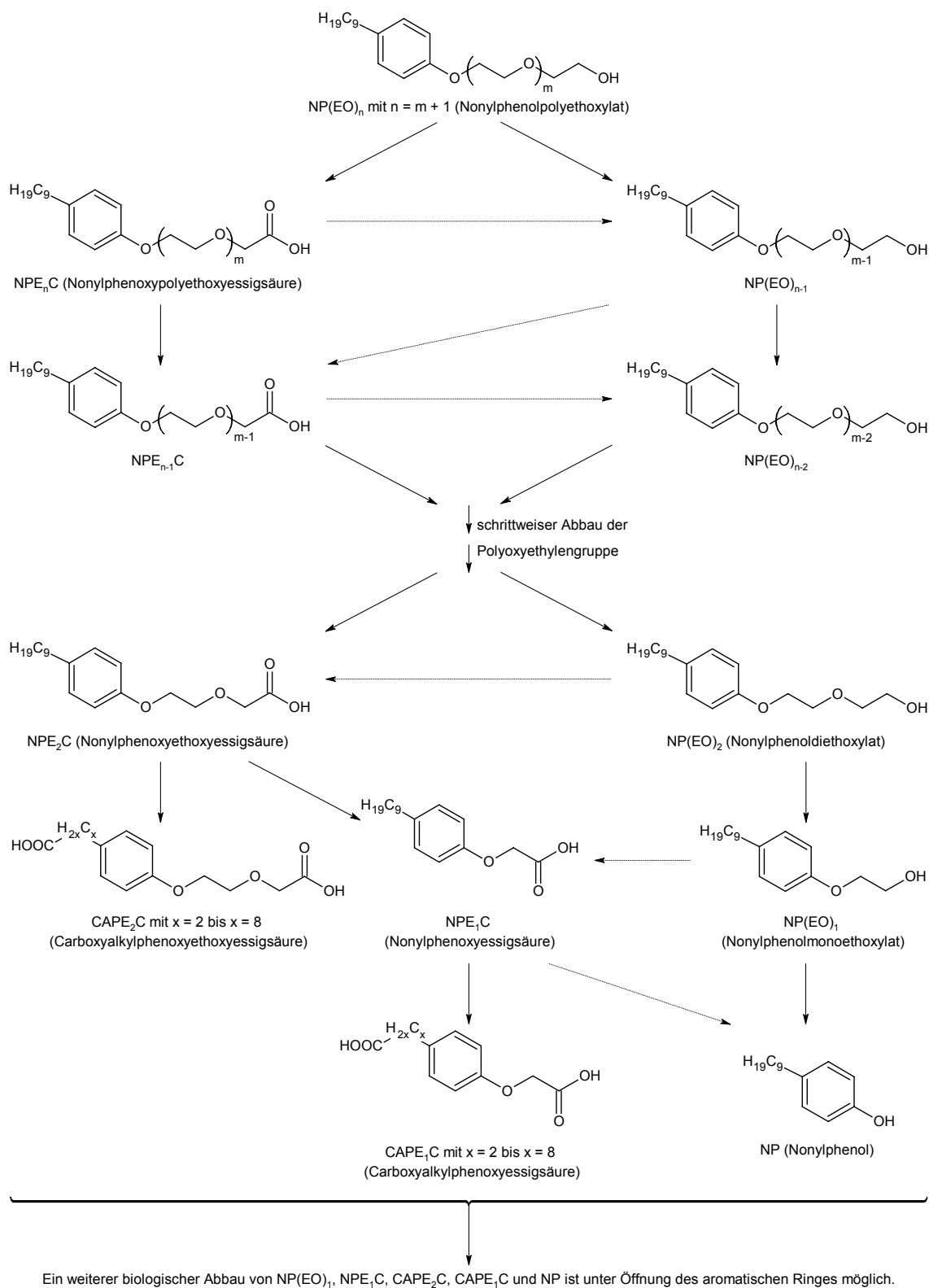


Abbildung 2.7: Vorgeschlagene biologische Abbaupfade von Alkylphenolethoxylaten am Beispiel von Nonylphenolpolyethoxylat.

waren noch nach 31 Tagen im Bioreaktor zu finden. NP trat als Metabolit überhaupt nicht auf. Sehr ähnliche Ergebnisse zeigten Laborexperimente zum NPEO-Abbau nach einem OECD-Protokoll von Di Corcia et al. [106]. Es konnten relevante Mengen an CAPEC mit drei bis acht C-Atomen in der Alkylkette isoliert werden. Diese werden durch Oxidation aus NPEC mit geringer Verzweigung der Alkylkette gebildet. Es konnten ebenfalls Carboxyalkylphenolethoxylate (CAPEO) nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass CAPEC mit Ausnahme von CAPE_1C und CAPE_2C extrem abbauresistent sind, sie waren mehr als fünf Monate stabil. Die dicarboxylierten NPEO-Metaboliten CAPE_1C und CAPE_2C konnten neben NPE_1C , NPE_2C und Nonylphenoxydiethoxyessigsäure (NPE_3C) sowie teilweise NP, $\text{NP}(\text{EO})_1$, $\text{NP}(\text{EO})_2$ und $\text{NP}(\text{EO})_3$ sowohl aus Kläranlagenabläufen [111], Abwässern [105] als auch kontaminierten Flusswässern [109, 111, 112, 113] isoliert werden. CAPEC machen 63–66 % der NPEO-Metaboliten aus, die Kläranlagen verlassen [105, 106]. Nach der Infiltration von NPEO an einem Uferfiltrationsstandort wurden sowohl im überwiegend aeroben als auch anaeroben Wasserteil des Aquifers NPEC und CAPEC nachgewiesen [276]. Kurzkettige NPEO wurden nicht einmal unter anoxischen Bedingungen gefunden. Innerhalb der Bodenpassage verringerte sich die Ethoxylatkettenlänge unter aeroben wie auch anaeroben Bedingungen mit der Tiefe. Ab einer Tiefe von 3 m waren nur noch NPE_1C , CAPE_1C und NP zu finden. Dabei nahm unter aeroben Bedingungen die NP-Konzentration innerhalb der ersten 3 m um ca. 80 % ab, während die NP-Konzentration unter anaeroben Verhältnissen um 38 % anstieg. An einer biologischen Kläranlage mit anschließender Bodenpassage der Abläufe konnte gezeigt werden, dass durchschnittlich 99 % der im Kläranlagenablauf befindlichen APEC während der Bodenpassage eliminiert werden [115].

Andererseits wurden in einer Feldstudie an zwei niederländischen Flussmündungen (Westerschelde und Rheinmündung) in den Oberflächenwässern und in den Sedimenten keine CAPEC gefunden, obwohl NPEO ($\text{max. } 2,3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), NP ($\text{max. } 0,9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) und NPEC ($\text{max. } 81 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) im Wasser sowie NPEO ($\text{max. } 242 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) und NP ($\text{max. } 1080 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) im Sediment nachgewiesen wurden [195]. In einem vierzigtägigen Kläranlagensimulationstest konnte für OPEO zwar ebenfalls eine ω -Carboxylierung nachgewiesen werden, aber neben dem Abbaupfad über die ω -Oxidation der Polyoxyethylengruppe ließ sich ebenfalls eine α -Spaltung der OPEO beobachten, da sowohl neutrale als auch mono- und dicarboxylierte Polyethylenglykole auftraten [138]. Scheinbar hängt der beschrittene Abbaupfad wesentlich von den Umweltbedingungen sowie der Zusammensetzung der mikrobiellen Populationen ab. **Abbildung 2.7** gibt einen Überblick der wichtigsten, möglichen biologischen Abbaupfade am Beispiel von NPEO.

Darüberhinaus läßt sich feststellen, dass ein vollständiger biologischer Abbau selbst der persistentesten APEO-Metaboliten durchaus stattfindet. In Labortests nach OECD-

Methoden wurde beispielsweise gezeigt, dass aerobe Mikroorganismen NPEC, OPEC und NP vollständig abbauen können [352]. Dabei wurden für den vollständigen, aeroben biologischen Abbau erster Ordnung Halbwertszeiten von 12 bis 22 Tagen für APEC und 20 Tagen für NP ermittelt. In Abbauprobungen mit aus Klärschlamm isolierten Reinkulturen von *Sphingomonas xenophaga* Bayram konnte für 4-NP gezeigt werden, dass ein biologischer Abbau stattfindet [144, 145]. Dabei hängt die Degradierungsgeschwindigkeit vom NP-Isomer ab, da Isomere mit stärker verzweigtem α -C-Atom der Alkylkette deutlich schneller abgebaut werden [144]. Am Anfang eines solchen Abbaupfades steht eine *ipso*-Hydroxylierung der NP unter Bildung von 4-Alkyl-4-Hydroxycyclohexadienonen [145]. Desweiteren haben Untersuchungen an den Flüssen Glatt und Sitter in der Schweiz [14] sowie Santa Ana in Kalifornien [114] gezeigt, dass eine effektive Eliminierung von NPEO-Metaboliten während der Infiltration vom Flusswasser zum Grundwasser stattfindet. Experimente mit ^{14}C -markierten Verbindungen bestätigen diese Befunde, da z. B. gezeigt werden konnte, dass sowohl in landwirtschaftlich genutzten als auch nicht kultivierten Böden schnelle Mineralisierung von 4-NP stattfindet [379]. Desweiteren wurde gezeigt, dass unter aeroben Bedingungen bei der Kompostierung von Klärschlamm und kommunalen Abfällen sowohl NP(EO)_1 und NP(EO)_2 als auch 4-NP abgebaut werden [275]. Lediglich unter extrem thermophilen Bedingungen fand eine Akkumulierung von 4-NP statt.

Neben dem Verhalten der APEO und ihrer Abbauprodukte während der biologischen Abwasserbehandlung wurde ferner untersucht, wie sich diese Verbindungen bei anderen bzw. ergänzenden Abwasser- und Wasserbehandlungsverfahren verhalten. Es wurde festgestellt, dass eine Desinfektion mit Chlor in der Gegenwart von Bromidionen zur Bildung bromierter sowie chlorierter NPEO und NPEO-Abbauprodukte führen kann [142, 297, 298]. Bromierte und chlorierte NP ließen sich sogar in Sedimentproben der Jamaica Bay in Long Island nachweisen [129]. In Laborversuchen, bei denen wässrige Alkylphenollösungen mit Chlor behandelt wurden, wurden in Abhängigkeit von der Cl_2 -Dosierung und dem pH-Wert die verschiedensten chlorierten Verbindungen gebildet, unter anderem auch als Beiprodukte polychlorierte Alkylphenoxyphenole mit ein bis fünf Cl-Atomen [282]. Bei diesen Verbindungen handelt es sich um sogenannte Prädioxine. Photoinduzierter Abbau mit Fe(III) kann zum Entfernen von APEO aus Wasser dienen [46, 59]. Dabei verläuft der photokatalytische Abbau mit der mehr als dreißigfachen Geschwindigkeit der reinen Photodegradierung und der Abbau in Abwasser ist schneller als in deionisiertem Wasser [59]. Als Intermediate wurden neben NP(EO)_2 und NPE_2C auch APEC, CAPEO und Polyethylenglykol nachgewiesen. D. h. es fand neben dem oxidativen Abbau der Polyoxyethylengruppe auch eine Oxidation der Alkylkette statt [59]. Allgemein ist die photochemische Oxidation von NPEO langsamer als die von Nonylphenol [15].

Eine Steigerung des biologischen Abbaus von NPEO in Wasser durch oxidative Vorbehandlung mit Fentons Reagenz ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) ist möglich [209]. Die Degradierung von NPEO-Biotransformationsprodukten durch Ozonierung und UV/ TiO_2 -Behandlung wurde ebenfalls untersucht [182]. Der Abbau mit UV/ TiO_2 war am erfolgreichsten für NP, aber am wenigsten effektiv für NPE_1C . Demgegenüber war Ozonierung besonders wirksam bei NPE_1C und sehr viel weniger wirkungsvoll beim $\text{NP}(\text{EO})_1$ -Abbau. Es wurde weiterhin festgestellt, dass eine oxidative Vorbehandlung mit Ozon und Wasserstoffperoxid den biologischen Abbau von NPEO steigert [210]. Für NP5EO wird jedoch bei zu geringen Ozondosen ($< 3 \text{ mg O}_3 / \text{mg Substanz}$) keine Steigerung der Bioabbaubarkeit beobachtet [1, 210]. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass bei der Behandlung von Abwässern mittels Mikrofiltration/Umkehrosmose oder Mikrofiltration/Nanofiltration ca. 95 % des gesamten organischen Kohlenstoffs entfernt werden können [115]. Dabei ließen sich APEC, für die eine Konzentration von $21,3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ im Abwasser bestimmt wurden, nach der Behandlung nicht mehr nachweisen.

2.4.3 Verbreitung von Alkylphenoethoxylaten und Alkylphenol-ethoxylatmetaboliten in der Umwelt

Alkylphenolische Verbindungen, die aus Abwässern stammen, wurden in zahlreichen Studien intensiv untersucht. Seit der gesetzlichen Einschränkung von APEO sowie dem freiwilligen Selbstverzicht der Industrie (s. **Abs. 2.2.2**), der in Westeuropa zu einer vollständigen Substitution von APEO durch Alkoholethoxylate in Haushaltsreinigern geführt hat, wurde insgesamt eine abnehmende Tendenz der APEO-Belastung beobachtet [295, 296]. So ließ sich beispielsweise an sieben Schweizer Kläranlagen im Zeitraum von 1983 bis 1997 eine Abnahme der NPEO-Abwasserbelastung um das 5 bis 10-fache feststellen [4, 7, 8]. Innerhalb Europas, Nordamerikas und Japans variierten die Konzentrationen an NPEO zwischen den verschiedenen untersuchten Kläranlagen in den Zuläufen sehr stark. Sie lagen in einem Bereich von weniger als $30 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis hin zu $2160 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (s. **Tab. 2.9**), erreichten aber auch in industriellen Abwässern Werte von bis zu $22500 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, speziell wenn sie aus Gerbereien, der Textilverarbeitung oder der Zellstoffherstellung stammten [33, 95]. Die OPEO-Belastung stellte sich als deutlich niedriger heraus, da OPEO von geringerer wirtschaftlicher Bedeutung sind. Sie machten etwa 5–15 % der gesamten APEO-Belastung aus und überstiegen selten Werte von $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ in Kläranlagenabläufen [295, 296]. In einer spanischen Studie wurden beispielsweise $7,5\text{--}84 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OPEO in den Kläranlagenzuläufen und $< 0,05\text{--}1,5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OPEO in den Kläranlagenabläufen gefunden [303].

Während der biologischen Abwasserbehandlung findet eine Eliminierung von 81 bis 99,5 % NPEO [295] und von 80 bis 98 % OPEO [296] statt. Jedoch führt die Reduktion

Tabelle 2.9: Konzentrationsbereiche von NPEO und deren Metaboliten in Zu- und Abläufen von Kläranlagen.

Verbindung	Land	Zulauf ($\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)	Ablauf ($\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)	Quellen
NPEO	Dänemark	30	< 0,5	[186]
		25	2,4	[78]
	Deutschland	120–270	24–48	[237]
	Großbritannien	–	1–60	[310]
		–	45 ± 16 (NP(EO) ₁)	[242]
	Italien	29–145	1,7–6,6	[105]
		127–352	0,74–12	[83]
	Japan	–	< 0,1–60 (NP(EO) _{1–3})	[142, 182, 185]
		–	< 0,1–245 (NP(EO) _{4–18})	
	Kanada	5,2–828	1,0–129	[121]
	Niederlande	< LOD–125	< LOD–2,2	[33, 95]
		50–22500		
	Schweden	–	0,5–27 (NP(EO) _{1–2})	[287]
	Schweiz	96–2160	< 0,1–369	[4, 7, 8, 9, 13]
	Spanien	33–854	< 0,5–49,3	[30, 118, 291, 303]
		27–2120	10–24	[56, 58]
	USA	140	2	[304]
		< 0,20–938 (NP(EO) ₄₊₆)	< 0,20–10 (NP(EO) ₄₊₆)	[146, 348]
		–	< 1,0–330	[346]
		–	160–460	[378]
		–		
NPEC	Deutschland	–	1,7–5,4	[237]
	Italien	–	0,6–15	[105]
	Japan	–	< 0,1–1119	[142, 182]
	Kanada	2,2–16	4,3–120 (NPE _{1–2} C)	[121]
	Schweiz	–	4–16	[7, 13]
	Spanien	< 0,2–65	4–113	[30, 118, 291, 303]
		< 0,4–219	13–33	[56, 58]
		0,21–80	< 0,08–270	[348]
	USA	–	142–272 (NPE _{1–4} C)	[134]
	–	–		
NP	Belgien	6	< 0,5	[374]
	Dänemark	–	< 0,5	[186]
	Deutschland	–	0,3–1	[237]
	Großbritannien	–	< 0,2–5,4	[310]
		–	$3 \pm 0,85$	[242]
	Italien	2–40	0,7–4	[107]
	Japan	–	< 0,1–1,7	[142, 182, 185]
	Kanada	–	0,8–15	[229]
		< 0,02–62	< 0,02–4,8	[121]
	Niederlande	< LOD–19	< LOD–1,5	[33, 95]
		< LOD–40		
	Schweden	–	0,5–3	[287]
	Schweiz	–	< 0,1–3,8	[7, 13]
	Spanien	< 0,5–80	< 0,1–154	[30, 118, 291, 303]
		17–251	15–225	[56, 58]
	USA	40–343	6–289	[146, 348]
		58	0,65	[304]
		–	< 1,0–33	[161]
	–	–	0,8–15	[378]

von APEO zur Bildung von deutlich schlechter abbaubaren Metaboliten (s. **Abs. 2.4.2**), so dass die Gesamtelimination von alkylphenolischen Verbindungen durch die Abwasserbehandlung nur sehr gering ist [295]. Eine Studie von Ahel et al. [7] in elf verschiedenen Kläranlagen kam zu dem Ergebnis, dass ungefähr 60 bis 65 % aller nonylphenolischen Verbindungen, die einer Abwasserbehandlung zugeführt werden, in die Umwelt eingeleitet werden. Davon gelangen 19 % als NPEC, 11 % in Form der lipophilen Ethoxylate $\text{NP}(\text{EO})_1$ und $\text{NP}(\text{EO})_2$, 25 % als NP und 8 % unverändert in die Umwelt. Die Gesamtumweltbelastung wird dabei zu 60 % durch den Ablauf von der Nachklärung in die Vorfluter und zu 40 % durch Faulschlamm verursacht.

Die Oligomerenverteilungen von NPEO, die in unbehandeltem und mechanisch behandeltem Abwasser auftraten, unterscheiden sich nur geringfügig von typischen Verteilungen kommerzieller NPEO-Produkte [4, 7, 8, 295]. Im Gegensatz zu diesen weisen sie neben dem Maximum bei 8–10 Oxyethyleneinheiten auch ein Maximum bei 1–3 Einheiten auf, was auf einen biologischen Abbau der Ethoxylatkette schon im Abwasser bzw. bei der mechanischen Klärung hinweist. Wie Ahel et al. [4, 8] feststellten, werden höhere NPEO-Oligomere dann während der biologischen Abwasserbehandlung fast vollständig abgebaut, da nach dem Belebungsbecken NPEO mit $n_{\text{EO}} > 8$ nicht mehr gefunden wurden. Bei einer gut arbeitenden biologischen Klärung werden NPEO mit $n_{\text{EO}} = 3$ bis $n_{\text{EO}} 8$ auch nur noch in Spuren gefunden [8]. Im Gegensatz dazu werden aus der Nachklärung die polarerer NPEC in Konzentrationen in die Vorfluter geleitet, die das doppelte bis zehnfache der Konzentrationen nach der mechanischen Stufe betragen können [295]. Bei den lipophilen Metaboliten NP, $\text{NP}(\text{EO})_1$ und $\text{NP}(\text{EO})_2$ wird der Massenstrom während der Abwasseraufbereitung durch den hohen Sorptionskoeffizienten bestimmt, so dass ein großer Anteil an der festen Fraktion sorbiert ist [295, 296]. NP wurde in Klärschlamm in Konzentrationen gefunden, die sich vom unteren $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ -Bereich bis zum unteren $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ -Bereich erstreckten [295, 296]. Die Adsorption von NP an Primär- und Sekundärschlamm und die Bildung aus NPEO während der anaeroben Stabilisierung von Klärschlamm führt zu extrem hohen NP-Konzentrationen in anaeroben Faulschlamm. Giger et al. [148] berichteten von Konzentrationen im Bereich von 450 bis $2530 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die Konzentrationen in Belebtschlamm, gemischten Primär- und Sekundärschlamm sowie in aerob stabilisierten Klärschlamm sind deutlich geringer [295, 296]. NPEO wurden in Klärschlamm in Gehalten von unter $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ bis hin zu über $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ nachgewiesen [295, 296]. Maximale Konzentrationen von mehr als $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ wurde in industriellen Kläranlagen gefunden [33, 95]. Sogar NPEC ließen sich in Klärschlamm nachweisen, jedoch in deutlich geringeren Gehalten. Es wurde ein Maximalwert von $113 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ NPE_{1-4}C bestimmt [135].

APEO und APEO-Abbauprodukte sind daher Umweltkontaminanten, die insbesondere für die aquatische Umwelt von Bedeutung sind, zumal in einigen Regionen — selbst

in hochindustrialisierten Ländern — nicht immer geeignete Möglichkeiten der Abwasserbehandlung vorhanden sind. Nachdem ferner deutlich geworden war, dass während der üblichen biologischen Abwasserbehandlung von APEO eine Eliminierung der vor allem kurzkettigen Oligomere nur unzureichend stattfindet und es dabei auch zur Bildung von umweltkritischen Abbauprodukten kommt, wurde neben ihrem Verhalten bei der Abwasserbehandlung vor allem ihre Verbreitung in Oberflächengewässern und marinen Küstengewässern untersucht. Vor allem in Kanada [36, 35, 38, 60, 121, 326, 331], in den USA [65, 82, 88, 129, 134, 161, 199, 216, 279, 335, 346, 345], in Japan [185, 367, 381, 380, 382, 383] und in Ländern Westeuropas, wie etwa Belgien [94], Deutschland [39, 44, 94, 140, 153, 154, 165, 213, 217, 221, 350], Frankreich [94], Großbritannien [41, 42, 94, 242, 333, 341, 377], Irland [94], Italien [83, 239, 240, 254, 256, 257, 273, 285, 385], den Niederlanden [94, 96, 195, 213], Norwegen [94], Schweden [94], Spanien [63, 64, 146, 226, 298, 302, 303, 300, 348, 384] und der Schweiz [3, 10, 12, 13, 14, 12, 253], wurden zahlreiche Studien über die Verbreitung von APEO und APEO-Metaboliten in der aquatischen Umwelt durchgeführt. Aber auch in vielen anderen Staaten wie z. B. Ägypten [64], Brasilien [213], China [332, 405], Israel [416], Kroatien [222, 223], Mexiko [34] und Taiwan [109, 111, 112] fanden entsprechende Untersuchungen statt. Solche Untersuchungen umfassen neben der Wasserphase auch Sedimente und aquatische Organismen. Ein Monitoring von APEO und APEO-Metaboliten ist nicht zuletzt auch deshalb von Bedeutung, weil es sich bei den APEO um eine der am weitesten verbreiteten Tensidklassen überhaupt handelt.

Eine Zusammenfassung der Daten von 12 weltweit vor dem Jahr 2000 durchgeführten Studien gibt einen Überblick über die globale Belastung von Oberflächengewässern und Sedimenten mit NPEO sowie den APEO-Metaboliten NPEC, NP und OP [213, 328]. Demnach umfassen die berichteten NPEO-Konzentrationen einen Bereich von $< 0,06 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $70 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für Oberflächengewässer sowie von $< 0,002 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ bis $9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ für Sedimente. Die entsprechenden Werte für NP reichen in Oberflächengewässern von weniger als $0,11 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis zu $180 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ und in Sedimenten von weniger als $0,003 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ bis hinauf zu $69 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Konzentrationen in Oberflächengewässern von NPEC sind ähnlich denen von NPEO und reichen von $< 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $45 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Die Konzentrationen des Metaboliten OP sind mit Maximalwerten von bis zu $3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ in der Wasserphase deutlich geringer und spiegeln die geringere wirtschaftliche Bedeutung von OPEO im Vergleich zu NPEO wieder. Die im Rahmen einer COMMPS-Studie europaweit für die Jahre 1994 bis 1997 ausgewerteten Gewässermonitoringdaten ergaben im Allgemeinen eine NP(EO)₁- und NP(EO)₂-Belastung im Bereich von $0,05 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $0,3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ sowie eine NP-Belastung von $0,03 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $0,3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ [40]. Einen Überblick der Belastungssituation in Deutschland verschafft **Tabelle 2.10**.

Tabelle 2.10: Berichtete Umweltkonzentrationen von APEO und APEO-Metaboliten in verschiedenen Oberflächengewässern Deutschlands.

Umweltkompartiment ^{a, b}	Verbindung	Konzentration ^c	Jahr	Quelle
Elbe und Nebenflüsse				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 23$)	NP(EO) ₁	0,0089–0,205	1998	[165]
	NP(EO) ₂	0,0024–0,084		
	NP	0,0010–0,221		
	OP(EO) ₁	0,0004–0,0063		
	OP(EO) ₂	0,0003–0,0068		
	OP	0,0004–0,0060		
($N = 15$)	NP(EO) _{1–10}	< 0,0005–0,124	1999/2000	[350]
	NPE _{1–8} C	< 0,010–0,944		
	NP	0,013–0,087		
	OP(EO) _{1–8}	< 0,0005–0,0096		
	OPE _{1–8} C	< 0,001–0,0034		
	OP	< 0,0005–0,0045		
Sediment ($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 22$)	NP(EO) ₁	0,323–1,027	1997/1998	[165]
	NP(EO) ₂	0,546–1,797		
	NP	0,367–1,378		
	OP(EO) ₁	0,030–0,113		
	OP(EO) ₂	0,045–0,140		
	OP	0,021–0,116		
($N = 12$)	NP(EO) _{1–10}	0,024–3,667	2000	[350]
	NPE _{1–8} C	< 0,050		
	NP	0,027–0,428		
	OP(EO) _{1–8}	0,025–0,813		
	OPE _{1–8} C	< 0,005–0,530		
	OP	0,027–0,428		
Schwebstoffe ($mg \cdot kg^{-1}$ TOC, $N = 4$)	NP(EO) ₁	n. d.–6,75	1998	[165]
	NP(EO) ₂	n. d.–11,6		
	NP	2,07–5,73		
	OP(EO) ₁	n. d.–0,68		
	OP(EO) ₂	n. d.–0,96		
	OP	n. d.–0,42		
Donau und Nebenflüsse				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 3$)	NP	0,056–0,233	1998/1999	[44]
	OP	< 0,020–0,163		
($N = 22$)	NP	0,0066–0,071	2000	[217]
	OP	0,0008–0,016		
Sediment ($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 2$)	NP	0,010; 0,094	1998/1999	[44]
	OP	0,009		

^a N , Anzahl der Probenahmestellen^b d. w., Trockengewicht^c n. d., nicht detektierbar

Tabelle 2.10 (Fortsetzung)

Umweltkompartiment ^{a, b}	Verbindung	Konzentration ^c	Jahr	Quelle
Lippe				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$)	NP(EO) ₁	1–2	1987	[221]
	NP	2–5		
Neckar und Nebenflüsse				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 20$)	NP	n. d.–0,485	1998/1999	[44]
	OP	n. d.–0,189		
Sediment($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 10$)	NP	0,010–0,259		
	OP	0,001–0,009		
Rhein und Nebenflüsse				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 26$)	NP(EO) ₁	< 0,08	2000/2001	[213]
	NP(EO) ₂	< 0,50		
	NPE ₁ C	< 0,08–0,48		
	NPE ₂ C	< 0,08–1,20		
	NP	< 0,08		
	OP	< 0,08		
Berlin/Brandenburg				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 32$)	NP(EO) _{1–2}	< 0,050–3,270	1997	[141]
	NP	< 0,080–2,720		
	OP	< 0,050–0,270		
Sediment ($\mu g \cdot kg^{-1}$ d. w., $N = 23$)	NP(EO) ₁	< 10–1900		
	NP	< 20–12700		
	OP	< 10		
Bodensee und Zuflüsse				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 10$)	NP	0,0063–0,130	2000	[217]
	OP	0,0010–0,054		
Sediment ($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 10$)	NP	< 0,003–0,150	1997	[151]

^a N , Anzahl der Probenahmestellen^b d. w., Trockengewicht^c n. d., nicht detektierbar

Obwohl in Ländern wie den Niederlanden und Deutschland aufgrund des PARCOM-Übereinkommens [284] seit 1995 ein freiwilliger Verzicht auf NPEO in häuslichen Anwendungen besteht, konnten dort in den Folgejahren APEO und seine Abbauprodukte nach wie vor in Süßwasserumweltkompartimenten gefunden werden [44, 96, 141, 151, 165, 213, 217, 350].

Im Rahmen der sogenannten LOES-Studie, die im Jahr 2002 in einem RIKZ/RIZA-Report [96] veröffentlicht wurde und in der Daten zur Belastung der aquatischen Umwelt der Niederlande mit Östrogenen und Xenoöstrogenen erhoben wurden, wurde zwar festgestellt, dass die niederländischen Oberflächengewässern kaum noch mit APEO belastet sind, jedoch ließen sich speziell in Sedimenten und Schwebstoffen APEO nach wie vor nachweisen. So wurden nur in maximal jeder zehnten Wasserprobe NP, OP und OPEO nachgewiesen. Die positiven Befunde betrugen immerhin noch mehr als 30 % für NPEO. Demgegenüber traten nur in jeder fünften Schwebstoff- oder Sedimentprobe keine NP

oder NPEO auf. OP und OPEO wurden in diesen Proben allerdings nur in Einzelfällen nachgewiesen. Die ermittelten Konzentrationen der AP und APEO erreichten für die Wasserphase Werte im unteren $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ -Bereich, lagen aber häufig unter $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Die nachgewiesenen Konzentrationen waren in den Schwebstoffen generell ein wenig höher als in den Sedimenten. In diesen beiden Probenarten wurden durchschnittlich Werte um $0,2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d.w.) für NP und NPEO erreicht. Die OP-Konzentrationen waren um den Faktor 10 geringer.

Wie sehr die Ergebnisse und ein Vergleich solcher Studien aber von der Empfindlichkeit der verwendeten analytischen Methoden abhängen, wird beim Vergleich der LOES-Studie mit einer Studie von Heemken et al. [165], die in Deutschland an der Elbe und an ihren Nebenflüssen in den Jahren 1997 und 1998 durchgeführt wurde, deutlich. In dieser Studie wurden in allen Wasserproben der Elbe und ihrer Nebenflüsse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie nach Flüssig/Flüssig-Extraktion von 2-l- bzw. 10-l-Proben mit Dichlormethan NP(EO)₁, NP(EO)₂, NP, OP(EO)₁, OP(EO)₂ und OP nachgewiesen. Die im Vergleich dazu deutlich geringere Anzahl an positiven Befunden der LOES-Studie ist allerdings darauf zurückzuführen, dass die hier verwendete Methode, die eine Festphasenextraktion von maximal 500-ml-Wasserproben, ein Al₂O₃-Clean-Up und eine Bestimmung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie unter Verwendung eines Fluoreszenzdetektors umfasste, wesentlich unempfindlicher war. So konnten von Heemken et al. [165] für alle Substanzen Nachweißgrenzen $\leq 0,5 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ erzielt werden, wohingegen die in der LOES-Studie erreichten Nachweißgrenzen für AP und APEO im Idealfall lediglich im Bereich von $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ lagen [96].

Ohne Berücksichtigung der Probenahmestelle Scharfenberg wurden in der Elbe im Jahr 1998 durchschnittlich $0,022 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁, $0,008 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₂ und $0,011 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP nachgewiesen [350]. Die mittleren Konzentrationen von OP(EO)₁, OP(EO)₂ und OP waren mit $0,001 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ca. um den Faktor 10 geringer. Die Werte, die für Scharfenberg ermittelt wurden, lagen bei allen alkylphenolischen Verbindungen mit dem fünf- bis zehnfachen deutlich oberhalb des Durchschnitts. Von den drei untersuchten Nebenflüssen zeigten die Mulde und die Schwarze Elster ähnliche Belastungen wie die Elbe, die Saale war aber mit um zwei- bis dreifach höheren Konzentrationen stärker belastet. Als Ursache hierfür wurde die Weiße Elster ermittelt, die in die Saale fließt. Dieser Fluss ist wegen einer chemischen Fabrik, die Antioxidantien und Stabilisierungsmittel für Kunststoffe herstellt, und wegen Kläranlageneinleitungen stärker mit nonylphenolischen Verbindungen belastet. Hier wurden im Mittel $0,154 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁, $0,071 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₂ und $0,031 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP gefunden. In einer nachfolgenden Studie [350], die in den Jahren 1999 und 2000 durchgeführt wurde, trat NP nach wie vor in allen Wasserproben der Elbe und der untersuchten Nebenflüsse auf, NPEO, OPEO und OP konnten nur in Einzelfällen nicht nachgewiesen

werden. Die ebenfalls in dieser Studie untersuchten NPEC und OPEC waren in 80 % der Proben enthalten. Für die Metaboliten NP und OP wurde ein Anstieg der Elbebelastung festgestellt. Mit einer mittleren Konzentration von $0,002 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP und $0,030 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP wurde eine Verdoppelung bzw. Verdreifachung dieser Kontaminanten im Vergleich zum Jahr 1998 beobachtet. Ferner wurden $< 0,0005$ bis $0,124 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO ($n_{EO} = 1-10$), $< 0,010$ bis $0,944$ NPEC ($n_{EO} = 1-8$), $< 0,0005$ bis $0,0096 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OPEO ($n_{EO} = 1-8$) und $< 0,001$ bis $0,0034 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OPEC ($n_{EO} = 1-8$) in der Elbe gefunden, wobei die NPEO-, NPEC- und OPEC-Konzentrationen zwischen den einzelnen Proben stark schwankten.

Die Belastung anderer deutscher Oberflächengewässer mit alkylphenolischen Verbindungen war für diesen Zeitraum vergleichbar hoch oder als eher geringer einzuschätzen (vgl. mit **Tab. 2.10**). Ausnahme bilden hier einige Oberflächengewässer in Berlin und Brandenburg, für die sogar maximale Konzentrationen von $3,27 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁ und NP(EO)₂ sowie $2,72 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP nachgewiesen wurden [141], was den Werten entspricht, die in den 1980ern in der Lippe in der Nähe eines NPEO produzierenden, chemischen Betriebes bei Marl ermittelt wurden [221].

Jedoch sind in diesen beiden Ländern die berichteten Konzentrationen dieser Schadstoffe nach 1995 deutlich geringer als in anderen Ländern, wie z. B. den USA und Spanien [213]. So traten beispielweise im spanischen Fluss Llobregat, der südwestlich von Barcelona ins Mittelmeer fließt, und in seinen beiden Nebenflüssen Anoia und Cardener in den Jahren 1999 und 2000 regelmäßig NPEO-, NPEC- und NP-Konzentrationen über $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ auf [146, 298, 303, 348]. Besonders in den beiden Nebenflüssen Anoia und Cardener, die beide durch Einleitungen aus Kläranlagen belastet sind, betrugen die ermittelten Konzentrationen in vielen Fällen mehr als $10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Die maximalen Konzentrationen, die im Flusswasser nachgewiesen werden konnten, betrugen $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO ($n_{EO} = 4+6$), $70 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEC und $644 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP [146, 348]. Die in den Sedimenten dieser beiden spanischen Flüsse ermittelten Konzentrationen weichen jedoch nicht deutlich von denen in deutschen oder niederländischen Flüssen nachgewiesenen Werten ab. Es wurden zwar für NPEO und NP häufig Werte $> 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ nachgewiesen, die Konzentrationen waren jedoch stets $\leq 0,82 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NPEO und $\leq 0,66 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP [303].

Im Jahr 1997 wurde in den USA z. B. im Trentonkanal des Detroit River, der durch ein Chemiewerk, ein Kraftwerk und eine kommunale Kläranlage belastet ist, mittlere Konzentrationen von $8,12 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO, $0,764 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP und $0,029 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP im Wasser ermittelt [346]. Im selben Jahr wurden am Lake Mead Untersuchungen durchgeführt [346]. Dabei wurden nur auf der durch Las Vegas beeinflussten Seite NPEO und NP nachgewiesen. Die Konzentrationen lagen hier im Bereich von $< \text{LOD}$ – $8,99 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO, $< \text{LOD}$ – $1,14 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP und $< \text{LOD}$ – $0,043 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP.

In Großbritannien konnte demgegenüber durch entsprechende Maßnahmen eine deut-

liche Verminderung der Belastung der Oberflächengewässer mit NPEO und NP erreicht werden, wie am Beispiel der Aire deutlich wird. Im Jahr 1993 wurden mit $180 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP von den in Großbritannien untersuchten Flüssen in der Aire bei Bingley die mit Abstand höchsten Konzentrationen gemessen [42]. Auch in den folgenden Jahren traten bei Bingley weiterhin die höchsten NP-Belastungen auf, so waren es 1995 immerhin noch $30 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP [41]. Zusätzlich wurden dort $46 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁ und NP(EO)₂ nachgewiesen [41]. Folge dieser hohen Belastung war, dass im Muskelgewebe verschiedener Fische der Aire 0,2 bis $0,8 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP sowie 0,8 bis $4,2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP(EO)₁ und NP(EO)₂ nachgewiesen werden konnten [41]. Ursache für diese starke Belastung war die bei Keighley und Leeds ansässige wollverarbeitende Industrie. Vor der Einrichtung geeigneter Kläranlagen an den Hauptproduktionsstätten in Keighley in West Yorkshire wurden im Kläranlagenablauf der kommunalen Kläranlage bis zu $950 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ APEO nachgewiesen [333]. Von 1993 an wurde eine kontinuierliche APEO-Reduktion im Kläranlagenablauf erreicht, so dass die gemessenen Konzentrationen in der Aire 2 km flussabwärts vom Kläranlagenablauf von $180 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP (1994) sowie $77 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁ und NP(EO)₂ (1995) auf $2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP sowie $7 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁ und NP(EO)₂ im Jahr 1997 gesenkt werden konnten [333].

In den Monitoringkampagnen, die z.B. in Deutschland, Spanien und den Niederlanden unter Einbeziehen von NPEC durchgeführt wurden, hat sich gezeigt, dass die ermittelten NPEC-Konzentrationen in der Wasserphase gewöhnlich höher waren als die von NPEO und NP [213,350]. Daher ergeben diese Studien im Gegensatz zu älteren Untersuchungen, die ohne eine Analyse der NPEC durchgeführt wurden, ein genaueres Bild der Belastungssituation. Wie wichtig eine zusätzliche Erfassung von NPEC sein kann, zeigt eine Studie, die in Hessen in den Jahren 2000 und 2001 durchgeführt wurde [213]. In dieser Studie wurden vom Landesamt für Umwelt und Geologie 21 Flüsse im Einzugsgebiet des Rheines untersucht. Obwohl die APEO-Metaboliten NP(EO)₁, NP(EO)₂, NP und OP überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten, traten NPE₁C und NPE₂C in vielen Proben auf, was auf einen schnellen aeroben Abbau von NPEO in den untersuchten Gewässern oder bereits vor der Einleitung in die Gewässer während der Abwasserreinigung hindeutet. Die mittleren Konzentrationen für das Jahr 2000 waren $0,23 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPE₁C und $0,39 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPE₂C. Die Gehalte im Jahr 2001 waren hingegen deutlich geringer.

Demgegenüber werden in Sedimenten und Schwebstoffen hauptsächlich NPEO und NP gefunden, da diese eine stärkere Tendenz zur Adsorption aufweisen als die wesentlich polaren NPEC [213]. In einer bereits oben erwähnten Studie wurden z. B. in frisch abgelagerten Elbesedimenten im Jahr 2000 durchschnittlich $0,58 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NPEO und $0,14 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP gefunden, während sich NPEC überhaupt nicht nachweisen ließen [350]. Für die ebenfalls untersuchten octylphenolischen Verbindungen wurde zwar mit $0,29 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ebenfalls eine deutlich höhere mittlere Konzentration von OPEO als von OPEC ermittelt, jedoch war

diese mit $0,08 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ deutlich höher als die mittlere OP-Konzentration von $0,014 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

Auch wenn die Anwendung von NPEO durch die EU seit 2003 zusätzlich stark eingeschränkt ist [125], lassen sich selbst in neuesten Untersuchungen in Europa noch NPEO und NPEO-Metaboliten in Oberflächengewässern nachweisen. So konnten beispielsweise in einer im Jahr 2006 veröffentlichten Studie sowohl in wässerigen Phasen als auch in Sedimenten und Schwebstoffen des Tibers und seines Nebenflusses Aniene, der nördlich von Rom in den Tiber mündet, $\text{NP}(\text{EO})_1$, $\text{NP}(\text{EO})_2$ und NP nachgewiesen werden [285]. Für beide Flüsse wurden vergleichbare Konzentrationen gefunden, dabei ließen sich je nach Saison in den Flusswässern $0,06\text{--}0,48 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ $\text{NP}(\text{EO})_1$, $0,04\text{--}0,42 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ $\text{NP}(\text{EO})_2$ und $0,13\text{--}0,58 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP nachweisen. In den Sedimentproben, die nur vom Flussbett des Tibers entnommen wurden, ließen sich Gehalte von $0,06\text{--}2,26 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ $\text{NP}(\text{EO})_1$, $<\text{LOD}\text{--}0,32 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ $\text{NP}(\text{EO})_2$ und $0,05\text{--}0,97 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP bestimmen. Die gefundenen Belastungen der Schwebstoffe mit $0,06\text{--}2,26 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ $\text{NP}(\text{EO})_1$, $<\text{LOD}\text{--}2,43 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ $\text{NP}(\text{EO})_2$ und $0,24\text{--}7,32 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP waren allgemein höher als die der Sedimente.

In einer anderen, im selben Jahr publizierten Untersuchung von Sedimentproben, die im südspanischen Fluss Guadalete an verschiedenen Stellen vor seiner Mündung in den Golf von Cádiz genommen wurden, wurde festgestellt, dass diese aufgrund der Einleitung der Abwässer aus zwei Kläranlagen durch Tenside und deren Abbauprodukte belastet waren [226]. Die ermittelten Konzentrationen reichten von $<\text{LOD}$ bis $0,077 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ für $\text{NP}(\text{EO})_1$ und von $0,022$ bis $0,059 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ für $\text{NP}(\text{EO})_2$. Es wurden außerdem $0,028$ bis $0,225 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP in den Sedimenten gefunden.

Auch in Deutschland im Jahre 2005 erstmalig untersuchte epilithische Biofilme aus Oberflächengewässern enthielten APEO-Metaboliten. Es konnten NP-Konzentrationen von $0,334 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (w.w.) in einem Biofilm aus der Niers und $0,044 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (w.w.) in einem Biofilm aus einem Schifffahrtskanal nachgewiesen werden [271].

Deweiteren ließen sich beispielsweise in Italien im Jahr 2006 in fast allen untersuchten Wasserproben des Lago Maggiore und seiner Zuflüsse NPEO und NPEC nachweisen [240]. NP trat lediglich in belasteten Zuflüssen mit Konzentrationen von bis zu $0,140 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ auf. Es wurde für den See eine durchschnittliche Belastung von $0,083 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO ($n_{\text{EO}} = 3\text{--}17$) ermittelt. Der Maximalwert des Sees von $0,307 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ wurde in einigen Zuflüssen mit Werten von bis zu $5,114 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ deutlich überschritten. Von den NPEO-Metaboliten zeigte sich NPE_1C mit den höchsten Konzentrationen. NPE_1C wurde mit Werten von $0,018$ bis $0,120 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ im See bzw. $0,001$ bis $1,836 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ in den Zuflüssen nachgewiesen. Die Metaboliten $\text{NP}(\text{EO})_2$, NPE_2C und NPE_3C traten im See stets in Konzentrationen $\leq 0,015 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ auf, wohingegen in den Zuflüssen die Belastung deutlich höher war.

Die Untersuchungen am Lago Maggiore sind insofern ein gutes Beispiel dafür, wie wichtig nach wie vor das Monitoring von APEO und APEO-Abbauprodukten ist, als dass

der See auch als Trinkwasserreservoi dient. Wie sich in der Studie gezeigt hat, waren die Trinkwasseraufbereitungsmaßnahmen nur ungenügend, da die NPEO- und NPEC-Konzentrationen im ebenfalls untersuchten Trinkwasser sich nicht signifikant von denen im See unterschieden. Die im Trinkwasser ermittelten NPEO-Konzentrationen aus der Studie am Lago Maggiore liegen mit $0,0024$ bis $0,285 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ in einer Größenordnung, die auch für andere Trinkwässer ($0,061$ – $0,120 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) berichtet wurden [83]. In Einzelfällen wurden sogar deutlich höhere Konzentrationen nachgewiesen. So wurden z. B. in den Niederlanden auch Werte von bis zu $4,5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO in Trinkwasser ermittelt, obwohl in mehr als 86 % der Fälle keine NPEO nachgewiesen wurden [96]. Falls sie in Trinkwasser auftreten, liegen die Konzentrationen der Metaboliten NP und OP deutlich unterhalb der APEO-Konzentrationen. So wurden beispielsweise in Deutschland maximale Werte von lediglich $0,015 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP und $0,005 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP ermittelt [217].

In der marinen Umwelt wurden vor allem Küstengewässer und Ästuar untersucht. Für die deutsche Nord- und Ostseeküste sind die Ergebnisse einiger Studien in **Tabelle 2.11** zusammengefasst. Gerade bei Flussmündungen meist belasteter Fließgewässer wurde die Verbreitung von APEO und APEO-Metaboliten in der Wasserphase und Sedimenten, aber auch in der Biota, untersucht. Verschiedene bedeutende Prozesse, die das Verhalten und den Verbleib von APEO und APEO-Metaboliten in der marinen Umwelt beeinflussen, waren in den zurückliegenden Jahren Bestandteil von Untersuchungen.

Die Konzentrationen von APEO und APEO-Metaboliten in Ästuaren sind üblicherweise geringer als die von Flüssen. Die berichteten Unterschiede betragen etwa eine Zehnerpotenz [42, 185, 256]. Während etwa in den Flüssen Großbritanniens mit Ausnahme der Aire ($< 1,6$ – $180 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP) im Jahr 1993 durchschnittlich ca. $1,3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP nachgewiesen wurden, betrug die mittlere Konzentration im Meerwasser an der Küste Großbritanniens lediglich $0,27 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ [42]. Dabei wurden nur in 27 % der Proben NP nachgewiesen, in den Flüssen waren es 62 % der Fälle. In Sedimenten der Bucht von Tokio, an der der mit 33 Millionen Menschen weltweit größte Ballungsraum liegt, wurden z. B. $0,03 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP(EO)_1 , $0,12$ bis $0,64 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP und $0,006$ bis $0,01 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) OP ermittelt [185]. In den beiden Flüssen Tama und Sumida, die etwa 30 % der Frischwasserzufuhr der Bucht von Tokio ausmachen, wurden im Allgemeinen in den Sedimenten signifikant höhere Konzentrationen gefunden. Dabei traten gerade im Sumida vielfach höhere Werte auf. So wurden in den Sedimenten des Sumidas $0,01$ bis $3,47 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP(EO)_1 , $0,52$ bis $13,0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP und $0,05$ bis $0,67 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) OP nachgewiesen. Auch in der Lagune von Venedig wurden 1994 deutlich geringere NPEO- und NPEC-Konzentrationen im Brackwasser bestimmt als in Wasserproben aus dem Fluss Osellino, der im Norden in die Lagune mündet [256]. In verschiedenen Monaten und an verschiedenen Stellen der Lagune von Venedig wurden $0,6$ bis $6,8 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO und $0,3$ bis $6,2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEC er-

Tabelle 2.11: Berichtete Umweltkonzentrationen von APEO und APEO-Metaboliten der deutschen Nord- und Ostseeküste.

Umweltkompartiment ^{a,b,c}	Verbindung	Konzentration	Jahr	Quelle
Deutsche Bucht				
Wasserphase ($\mu g \cdot l^{-1}$, $N = 5$)	NP(EO) _{>2}	< 0,010	1990	[39]
	NP	0,0007–0,0045		
($N = 6$)	NP(EO) _{>2}	< 0,010	1995	[39]
	NP	0,0012–0,033		
($N = 11$)	NP(EO) ₁	0,0007–0,111	1998/1999	[165]
	NP(EO) ₂	0,0001–0,024		
	NP	0,0003–0,084		
	OP(EO) ₁	0,0001–0,012		
	OP(EO) ₂	0,0001–0,021		
	OP	0,00002–0,018		
Sediment ($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 11$)	NP(EO) ₁	< 0,010	1997	[39]
($N = 1$)	NP(EO) _{>2}	< 0,010		
($N = 12$)	NP	< 0,010–0,153		
($\mu g \cdot g^{-1}$ w. w., $N = 3$)	NPEO	0,028–0,108	1997	[94]
	OPEO	0,0009–0,0058		
($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 3$)	NP(EO) ₁	0,754–0,886	1998/1999	[165]
	NP(EO) ₂	0,972–1,144		
	NP	0,367–0,483		
	OP(EO) ₁	0,094–0,113		
	OP(EO) ₂	0,126–0,140		
	OP	0,032–0,040		
Miesmuscheln ($\mu g \cdot kg^{-1}$ w. w., $N = 8$)	NP	1,0–4,0	1985–1995	[153]
Ostseeküste				
Sediment ($\mu g \cdot g^{-1}$ d. w., $N = 7$)	NP(EO) ₁	< 0,010	1,997	[39]
($N = 3$)	NP(EO) _{>2}	< 0,010–0,039		
($N = 7$)	NP	0,010–0,134		

^a N , Anzahl der Probenahmestellen bzw. —ereignisse^b d. w., Trockengewicht^c w. w., Feucht- bzw. Frischgewicht

mittelt. Die im Flusswasser bestimmten Konzentrationen lagen in einem Bereich von 7,9 bis $62 \mu g \cdot l^{-1}$ für NPEO und 7,3 bis $225 \mu g \cdot l^{-1}$ für NPEC und waren damit stets höher als die maximalen Konzentrationen der Lagune.

In einigen Fällen können jedoch lokale Emissionsquellen in Ästuaren Grund für eine höhere Belastung sein [42, 300]. So wurden 1993 an der hochindustrialisierten Mündung des Tees bei Redcar Jetty $5,2 \mu g \cdot l^{-1}$ NP im Meerwasser nachgewiesen, was dem ca. Zwanzigfachen der durchschnittlichen Belastung britischer Küstengewässer und dem Vierfachen der mittleren NP-Konzentration britischer Flüsse zu dieser Zeit entspricht [42]. Als ein weiteres Beispiel kann die katalonische Mittelmeerküste dienen. Während im Mündungsbereich des Besos und des Llobregats sowie in der Nähe eines Kläranlagenabflusses maximale

Konzentrationen von 1,8 bis $4,8 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NPEO und 1,1 bis $4,1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP in den Küstengewässern vor Barcelona auftraten, konnten NPEO und NP in einer Entfernung von 1 km nicht mehr nachgewiesen werden [300]. Die von Ästuaren ausgehende Tensidbelastung in die marine Umwelt wird für die meisten Fällen aber als sehr gering eingeschätzt [193].

Das geringere Produktionsvolumen dieser Tenside widerspiegelnd erreichen OPEO und entsprechende Abbauprodukte Konzentrationen, die normalerweise etwa ein Zehntel der Werte der Nonylphenolderivate betragen [165,193]. Dies gilt sowohl für die Wasserphase als auch Sedimente [165]. So wurden im Meerwasser der Deutschen Bucht $0,0007\text{--}0,111 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁, $0,0001\text{--}0,024 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₂ und $0,0003\text{--}0,084 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NP gegenüber $0,0001\text{--}0,012 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP(EO)₁, $0,0001\text{--}0,021 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP(EO)₂ und $0,00002\text{--}0,018 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ OP gefunden [165]. Die maximalen Konzentrationen, die für die Sedimente ermittelt wurden, betrugen $0,886 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP(EO)₁, $1,144 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP(EO)₂ und $0,483 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) NP im Vergleich zu $0,113 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) OP(EO)₁, $0,140 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) OP(EO)₂ sowie $0,040 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) OP [165]. Noch deutlicher sind die Unterschiede in Sedimenten aus der Bucht von Tokio. Hier wurden NP-Konzentrationen von $0,12$ bis $0,64 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) ermittelt, die ein vielfaches der OP-Belastung von $0,006$ bis zu $0,01 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (d. w.) darstellen [185].

In geschichteten Ästuaren tendieren APEO-Tenside an den Phasengrenzen Luft/Wasser und Frischwasser/Salzwasser zu akkumulieren, was zu einem komplexen, vertikalen Verteilungsmuster in der Wassersäule führt [222,223]. Es wurden für die Oberflächenmikroschicht des Ästuars der kroatischen Krka in der Mitte des Hafens von Šibenik Anreicherungsfaktoren von 3,8 für NP(EO)₁, > 5 für NP(EO)₂ und 15 für NP bestimmt [222]. Die Anreicherungsfaktoren für die Halokline erreichten ähnliche Werte, sie betrugen 6,8 für NP(EO)₁, 26 für NP(EO)₂ und 6,8 für NP.

Ferner sind biologische Abbauprozesse von großer Bedeutung in Salzwasser, auch wenn sie vergleichsweise langsamer ablaufen als in Frischwasserumgebungen [193]. Deswegen können die Konzentrationen gelöster kurzkettigen APEO und APEC in vielen Fällen höher als die der Tenside selbst sein [193]. NPE₂C und NP(EO)₂ wurden als die persistentesten Metaboliten identifiziert [195,306]. Dabei hängt die Biodegradierung sehr stark von der Aufenthaltszeit des Wassers im Ästuar ab. Je länger diese ist, desto mehr biologischer Abbau findet statt. Der Verbleib von kurzkettigen APEO-Metaboliten in Ästuarien wird daher neben dem im Wasser stattfindenden biologischen Abbau primär durch advective Transportvorgänge aus dem Flussmündungsbereich bestimmt, wobei auch Sorptionsprozesse eine Rolle spielen [129]. Sorption von APEO an Sedimenten findet generell statt und sobald das Tensid in das Sediment gelangt ist, findet der weitere Abbau nur noch sehr langsam statt [331]. Die Akkumulation von APEO in Makroalgen könnte Ursache dafür sein, dass es in den oberen Sedimentschichten zu höheren APEO-Konzentrationen kommt,

wenn das Sediment mit einer Schicht von verrottender Biomasse, die auch solche Algen enthält, bedeckt ist [254].

Neben der Akkumulation durch Algen, können auch andere Meeresorganismen APEO und APEO-Metaboliten aufnehmen. In Großbritannien wurden z. B. bis zu $0,240 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP(EO)₁ und bis zu $0,180 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP in Fischen nachgewiesen [41, 242]. Die OP-Konzentrationen betrugen etwa ein Zehntel der Werte von NP. In den Niederlanden wurde in Meeresfischen Maximalwerte von $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NPEO und $0,12 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ NP gefunden [96]. In einer zehnjährigen Studie von 1985 bis 1995 konnten von Günther et al. [153] NP in Miesmuscheln nachgewiesen werden. In diesem Zeitraum sind die NP-Konzentration in Miesmuscheln aus dem deutschen Nordseegebiet um das Vierfache zurückgegangen ist. So sank der NP-Gehalt bezogen auf das Frischgewicht von 0,004 auf $0,001 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ [153].

Im Gegensatz zu der von Leisewitz und Schwarz [233] in einer Öko-Recherche im Auftrag des Umweltbundesamtes vertreten Auffassung, dass der Luftpfad wegen des geringen Dampfdrucks als Verbreitungsmedium für Alkylphenole weitgehend ausscheide, sollte dem Transport gerade der wasserdampfllüchtigen APEO-Metaboliten NP und OP von der Wassersäule in die Atmosphäre Aufmerksamkeit geschenkt werden. Wie Untersuchungen des Gas- und des Aerosolanteils der Luft an der Mündung des unteren Hudson zeigten, traten NP-Konzentrationen von bis zu $81 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ für die Gasphase und von bis zu $51 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ für den Aerosolanteil auf [88, 387]. Die OP-Belastung war mit Maximalwerten von 2,5 bzw. $0,63 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ deutlich geringer. Dabei wurde in einer Modellstudie ermittelt, dass der Anteil an NP, der durch Verflüchtigung aus der Wassersäule entfernt wird, mit 40 % größer ist als der Anteil durch Abbau oder Advektion aus dem Ästuar heraus [387]. Auch das Auftreten von NP in Regenwasser und Schnee mit Konzentrationen von bis zu 0,950 bzw. $0,802 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ weist auf die Bedeutung des Transportes von AP über die Atmosphäre hin [140].

2.4.4 Umwelttoxizität von Alkylphenoethoxylaten und Alkylphenoethoxylatmetaboliten

Die starke Verbreitung der APEO und APEO-Abbauprodukte in der Umwelt wirft die Frage nach deren Toxizität und den Risiken einer Bioakkumulation auf. Besonders problematisch ist, dass die APEO-Abbauprodukte toxischer sind als die APEO selbst, da die Toxizität mit abnehmender Länge der Polyoxythylengruppe zunimmt [40, 233]. So wurde beispielsweise anhand von Tests mit dem Meerwasserkleinkrebs *Mysidopsis bahia* zur akuten Toxizität von Tensiden für APEO mit sowohl linearer als auch stark verzweigter Alkylgruppe festgestellt, dass die mittlere letale Konzentration mit sinkendem Ethoxylie-

rungsgrad stark abnimmt [162]. Die ermittelten $LC_{50/48h}$ -Werte⁴ reichten von $\leq 2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ für $n_{EO} = 1, 5$ bis $> 4000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ für $n_{EO} = 50$. Nicht nur Toxizitätstest mit dem Blauen Sonnenbarsch (*Lepomis macrochirus*) bestätigen ebenfalls die Befunde, dass mit abnehmenden Ethoxylierungsgrad die Toxizität von NPEO wie auch von OPEO für aquatische Organismen deutlich ansteigt [243], sondern auch die positive Korrelation zwischen dem Grad der Phytotoxizität von OPEO-Tensiden auf die Kleine Wasserlinse *Lemna minor* L. mit den HLB-Werten der OPEO [61].

NPEO sind als wassergefährdend eingestuft [233]. Der wichtige APEO-Metabolit NP gilt als stark wassergefährdend und ist für Fische ($LC_{50} = 0,13\text{--}1,4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), aquatische Wirbellose ($LC_{50} = 0,18\text{--}3,0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) und Algen (EC_{50} ⁵ = $0,027\text{--}1,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) sehr toxisch [40, 233]. In einer Studie mit den Süßwasserspezies *Pimephales promelas* (Fettköpfige Elritze) und dem Wasserfloh *Ceriodaphnia dubia* wurde die akute Toxizität von NP(EO)₁, NP(EO)₂ und NP untersucht [375]. Die mittleren letalen Konzentrationen $LC_{50/96h}$ für *Pimephales promelas* waren $136 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bei NP, $218 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bei NP(EO)₁ und $323 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bei NP(EO)₂. Für *Ceriodaphnia dubia* ergaben sich $LC_{50/48h}$ -Werte von $92,4 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für NP, $328 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für NP(EO)₁ sowie $716 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für NP(EO)₂. Wie die ebenfalls mit binären und ternären Mischungen dieser drei Substanzen an den beiden Testorganismen durchgeführten Versuche nahelegen, wirken NP, NP(EO)₁ und NP(EO)₂ additiv oder synergistisch. Für Shrimps (*Crangon septemspinosa*) und juvenile Atlantische Lachse (*Salmo salar*) wurden in einer weiteren Untersuchung $LC_{50/96h}$ -Werte von 150 bis $2700 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bzw. 150 bis $1000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für verschiedene Alkylphenole ermittelt. Generell nahm die mittlere letale Konzentration mit steigendem Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten ab. In einer anderen Studie wurde die akute und chronische Toxizität von NP für den Wasserfloh *Daphnia magna* anhand der Immobilisation, dem Verlust der Schwimmfähigkeit, untersucht [80]. Es wurden effektive Konzentrationen von $EC_{50/24h} = 300 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ und $EC_{50/48h} = 190 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ermittelt. Die Untersuchungen ergaben einen NOEC-Wert⁶ von $24 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Bei dieser Konzentration wurde auch nach 21 Tagen noch keine Wirkung beobachtet.

Auch die Toxizität von APEO auf Phytoplankton wurde untersucht. Es wurde in Laborversuchen anhand der Wachstumshemmung für *Selenastrum capricornutum* $EC_{50/48h}$ -Werte von 20 bis $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ für APEO-Tenside bestimmt [408]. Ferner wurden neben Labor- auch Felduntersuchungen der akuten toxischen Wirkung von OP(EO)₁₀ auf Phyto-

⁴ LC_{50} , mittlere letale Konzentration, bei der 50 % der exponierten Lebewesen innerhalb eines definierten Zeitraums sterben. Ein Zeitraum von z. B. 24 Stunden wird wie folgt angegeben: $LC_{50/24h}$.

⁵ EC_{50} , effektive Konzentration, bei der 50 % der maximalen Wirkstärke einer spezifischen Wirkung innerhalb eines definierten Zeitraums erreicht wird. Ein Zeitraum von z. B. 24 Stunden wird wie folgt angegeben: $EC_{50/24h}$.

⁶NOEC, Abk. für englisch „no observed effect concentration“, höchste Konzentration eines Stoffes, die bei den Testorganismen keine signifikante Hemmwirkung zeigt.

plankton durchgeführt [236]. Dabei wurden auf Populationswachstum, Populationsdichte und Diversität basierende effektive Konzentrationen ermittelt. In den Labortests wurden $EC_{50/96h}$ -Werte von $210 \mu g \cdot l^{-1}$ für *Selenastrum* und $7400 \mu g \cdot l^{-1}$ für *Microcystis* bestimmt. Die *in-situ* ermittelten Konzentrationen mit dem ersten zu beobachtendem Effekt waren 32-fach so hoch wie die im Labortest bestimmten LOEC-Werte⁷ von $100 \mu g \cdot l^{-1}$.

Wie *in-vitro*-Studien mit Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) gezeigt haben, weisen APEO und APEO-Umweltmetaboliten schwach östrogene Wirkung auf [188]. Dabei nimmt die östrogene Wirkung mit wachsender Ethoxylatkette ab. 4-NP hat mit dem $9 \cdot 10^{-6}$ -fachen von 17- β -Estradiol eine stärkere östrogene Wirksamkeit als NP(EO)₂, NP9EO (Tergitol NP9) und NP40EO (Tergitol NP40). Während NP(EO)₂ mit dem $6 \cdot 10^{-6}$ -fachen von 17- β -Estradiol noch eine ähnliche Aktivität aufweist, ist NP9EO mit dem $2 \cdot 10^{-7}$ -fachen von 17- β -Estradiol deutlich schwächer östrogenaktiv als NP. NP40EO zeigte überhaupt keine nachweisbare östrogene Wirkung, da dieses langkettige Ethoxylat im Gegensatz zu den anderen nonylphenolischen Verbindungen keine Erhöhung der Vitellogeninproduktion verursachte. Anhand dieses Eidottervorläuferproteins, dessen Konzentration mit Hilfe eines Radioimmunoassays bestimmt wurde, wurde die östrogene Wirksamkeit im Vergleich zu 17- β -Estradiol bestimmt. So zeigte NPE₁C eine nahezu identische Wirksamkeit wie NP(EO)₂. Unter den untersuchten 4-Alkylphenolen zeigte sich mit abnehmender Kettenlänge der Alkylgruppe eine Zunahme in der Aktivität. So war 4-*tert*-OP mit dem $3,7 \cdot 10^{-5}$ -fachen von 17- β -Estradiol deutlich wirksamer als 4-NP. 4-*tert*-Butylphenol hatte mit dem $1,6 \cdot 10^{-4}$ -fachen von 17- β -Estradiol die höchste Wirksamkeit aller untersuchten Xenoöstrogene. Es stellte sich ferner heraus, dass die *para*-Stellung der Alkylgruppe essentiell für eine Östrogenaktivität ist, da 2-Butylphenol und 3-Butylphenol sich nicht signifikant von der Kontrollprobe in der Vitellogeninkonzentration unterscheiden.

Untersuchungen mit Ratten weisen darauf hin, dass Nonylphenol die Aktivität von Enzymen, die an der Testosteron-Synthese beteiligt sind, hemmen kann [227]. Außerdem hemmen Alkylphenole sowohl bei Fischen als auch bei Säugetieren die Enzyme Sulfotransferasen, die aktive östrogene Steroide in inaktive Steroidsulfate überführen, und Ca²⁺-ATPasen, die zur Aufrechterhaltung geringer, physiologischer, intrazellulärer Ca²⁺-Konzentrationen dienen [204]. Für Nonylphenol konnte ein signifikanter Einfluss auf die Funktion von Säugetiersperma nachgewiesen werden [2]. Effekte von *tert*-Octylphenol auf die Reproduktion wurden über drei Generationen hinweg beim Schwein beobachtet [43]. Es fanden auch Untersuchungen zur Genotoxizität und Zytotoxizität von NPEO an menschlichen Lymphozyten statt [163]. Ergebnis dieser Untersuchungen war, dass es

⁷LOEC, Abk. für englisch „lowest observed effect concentration“, geringste Konzentration eines Toxins, die eine statistisch meßbare Wirkung auf den untersuchten Organismus zeigt.

zur Beschädigung der DNA durch NPEO in menschlichen Lymphozyten kommen kann, jedoch erst bei höheren Konzentrationen als sie in Fluss- und Trinkwasser normalerweise gefunden werden. Es wurden einige Untersuchungen zur Bioakkumulation von APEO-Abbauprodukten in Süßwasser- und Meeresorganismen durchgeführt. So wurde beispielsweise für Oberflächengewässer in der Schweiz gezeigt, dass Biokonzentrationsfaktoren in makrophytischen Algen sehr hoch sein können. Sie reichten für NP(EO)_1 von 200 bis 5000, für NP(EO)_2 von 500 bis 1800 und für NP von 6600 bis 10000 [12]. In der selben Studie zeigte sich, dass Biokonzentrationsfaktoren für Fische geringer waren (NP(EO)_1 : 3–300, NP(EO)_2 : 3–326, NP: 13–408). Insgesamt waren die Biokonzentrationsfaktoren von NP(EO)_1 und NP(EO)_2 geringer als von NP, was in Übereinstimmung mit den geringeren Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten von NP(EO)_1 und NP(EO)_2 steht [12]. In anderen Untersuchungen konnte eine Bioakkumulation von NP durch den atlantischen Lachs [24, 25, 270], Süßwassermuscheln [36] und Shrimps [159, 270] nachgewiesen werden. Für den Atlantischen Lachs wurde beispielsweise für 4-NP ein Biokonzentrationsfaktor von 280 ermittelt [270]. Auch die Aufnahme und Metabolisierung von Octylphenol durch Fische, wie z. B. Rotaugen [131], Regenbogenforelle [132] und Flunder [245], wurde untersucht. So konnte für Flundern eine Korrelation zwischen der Akkumulation von Octylphenol in Muskel- sowie Lebergeweben und dem Anstieg der Plasma-Vitellogeninkonzentration festgestellt werden [245].

Wie Untersuchungen gezeigt haben, ist auch eine Aufnahme des wichtigen APEO-Metaboliten Nonylphenol durch den Menschen wahrscheinlich, da in vielen Lebensmitteln, ja sogar in Fertig-Babynahrung und Muttermilch, Nonylphenol gefunden und bestimmt wurde [152, 154]. Es wurde auch eine Abschätzung über die tägliche Aufnahme von Nonylphenol mit der Nahrung gemacht, die zu dem Schluss kommt, dass Erwachsene 7,5 μg und Säuglinge – je nachdem ob sie gestillt werden oder nicht – 0,2 bis 1,4 μg pro Tag zu sich nehmen [154].

Insgesamt hat sich gezeigt, dass der verbreitete Einsatz von APEO als bedenklich zu bewerten ist. Logische Konsequenz muss daher ein Verbannen dieser Tenside sein. Dem wurde in Europa durch gesetzliche Maßnahmen zum Schutz von Mensch und Umwelt Rechnung getragen. In Europa dürfen daher seit 2003 nicht mehr als 0,1 % w/w NPEO und NP in Pestizid- und Biozidformulierungen enthalten sein [125]. Dieser Grenzwert gilt mit einigen Ausnahmen auch für alle Zubereitungen, die zum Zweck der gewerblichen sowie Haushaltsreinigung dienen oder bei der Textil- und Lederverarbeitung, als Emulgator in Melkfett, bei der Metallverarbeitung, bei der Zellstoff und Papierherstellung und als kosmetische Mittel oder sonstige Körperpflegemittel angewendet werden.

Kapitel 3

Überblick der gebräuchlichsten Methoden zur Analyse von Alkylphenol-ethoxylaten

3.1 Methoden zur Probenvorbereitung

3.1.1 Entnahme, Konservierung und Behandlung von Proben

Analytische Ergebnisse hängen nicht zuletzt von einer repräsentativen Entnahme der Probe und einer geeigneten Lagerung ab. Dabei ist neben einer ausreichenden Homogenität der Probe vor allem wichtig, dass die Probenzusammensetzung keinen Veränderungen während der Lagerung unterliegt. Gerade bei oberflächenaktiven Substanzen wie APEO findet leicht eine Anreicherung an Phasengrenzflächen aufgrund ihrer amphiphilen Natur statt, so dass mit Verlusten durch Adsorption an Gefäßwänden und suspendierten Feststoffen zu rechnen ist. Aus diesem Grund werden häufig interne Standards der Probe zugesetzt, wenn damit zu rechnen ist, dass keine quantitative Wiederfindung während der Isolierung und Quantifizierung der Analyten zu erreichen ist.

Bei heterogenen Systemen wie Pulvern, Pasten, Emulsionen oder sonstigen Dispersionen besteht immer die Gefahr einer ungleichmäßigen Verteilung der Analyten in der Matrix. Daher muss es Ziel der Probenvorbereitung sein, vor der Entnahme eines Aliquots zur späteren Analyse die Probe ausreichend zu homogenisieren und eine reproduzierbare Auftrennung der Komponenten, die meistens in einer Extraktion der APEO besteht, zu gewährleisten.

Eine Konservierung von industriellen Zubereitungen, wie es beispielsweise Pestizidformulierungen sind, ist in der Regel nicht notwendig. Bei Umweltproben kommt der

Konservierung eine große Bedeutung zu. Im Hinblick auf eine geeigneten Probenkonservierung wurden verschiedene Stabilitätsstudien gemacht [3, 216, 279, 291]. Wasserproben, die z. B. aus Kläranlagen oder Oberflächengewässern stammen, werden üblicherweise in Glasflaschen gesammelt, mit 1 % (*v/v*) Formaldehyd konserviert und bei 4 °C dunkel gelagert [10, 83, 107, 216, 228, 251, 257, 252]. Klärschlämme können ebenso behandelt werden [253]. Auch Lagerungen von Wasser-, Sediment- oder Schlammproben bei -20 °C nach Konservierung mit 3 % Formalin wurden durchgeführt [94]. Weitere Alternative stellen das Einfrieren von Sedimenten mit flüssigem Stickstoff [215], das Konservieren von Wasserproben mit 100 $mg \cdot l^{-1}$ Natriumazid bei anschließender Lagerung bei 4 °C [237] und das Anreichern der zu untersuchenden Analyten auf Sorbentien, die zur Festphasenextraktion verwendet werden, mit einer nachfolgenden Lagern bei 4 oder -20 °C dar [291]. Heutzutage ist es eine übliche Praxis, feste Matrices von Wasser zu befeien und trockene Proben zu lagern [228, 294]. Gefriertrocknung ist dabei eine allgemein akzeptierte und häufig angewandte Maßnahme zur Trocknung von beispielsweise Sedimenten oder Klärschlämmen [64, 127, 128, 161, 185, 224, 290, 300, 330, 385]. Lufttrocknung bei Raumtemperatur [38, 129, 215, 232, 230] oder bei 60 °C [253] wurde ebenfalls durchgeführt. Die Gefriertrocknung führt jedoch zu konstanteren Wiederfindungsraten als die Lufttrocknung [330]. Bei industriellen Zubereitungen, die in fester Form vorliegen oder zuvor von Lösemitteln befreit wurden, ist ein Trocknen im Trockenschrank bei 60 °C oder besser im Vakuumexsikkator vorteilhaft, um Spuren von Wasser zu entfernen [179].

Besonders bei der Spurenanalytik von APEO, wie z. B. bei der Untersuchung von Oberflächengewässern, können durch die Probenvorbereitung bedingte Fehler einen sehr negativen Einfluss auf die Richtigkeit des Analysenergebnisses ausüben. Solche Fehler sind in den meisten Fällen entweder auf zu hohe Methodenblindwerte oder eine schlechte Wiederfindung zurückzuführen. Wie Wiederfindungsexperimente gezeigt haben, können die während der Probenvorbereitung z. B. durch Adsorption der APEO an Glasoberflächen auftretenden Analytverluste erheblich sein [216]. Eine Verminderung dieser kann durch Ausspülen und Silanisierung der verwendeten Glasgeräte erreicht werden [279]. Ist eine Filtration von Wasserproben für die Analyse notwendig, können Verluste von bis zu 18 % Nonylphenol und 8 % APEO durch Adsorption am Filterkuchen auftreten [251]. Diese können fast vollständig durch Zusatz von mindestens 3 % (*w/w*) NaCl oder 0,003 mol/l Natriumdodecylsulfat zurückgedrängt werden [251]. Häufig treten auch dann Verluste auf, wenn APEO-Extrakte bis zur Trockene eingeeengt werden oder wenn wasserhaltige Proben getrocknet werden. Falls dies bei der späteren Analyse der APEO nicht stört, kann ein Zusatz eines geeigneten Alkanolethoxylats vor dem Entfernen des Lösemittels hilfreich sein, da dann die Analyten in diesem gelöst bleiben [216].

Hohe Blindwerte können beispielsweise durch kontaminierte Glasgeräte, Kunststoffgerä-

te, Lösemittel oder SPE-Sorbentien verursacht werden. SPE-Sorbentien können beispielsweise durch 24-stündige Soxhlet-Extraktion mit Methanol gereinigt werden [127]. Der Gebrauch von Kunststoffgeräten, die nicht aus Teflon oder Polyetheretherketon gefertigt sind, ist ebenso zu vermeiden wie der Gebrauch von Spülmitteln zu Reinigungszwecken [127]. Erhitzen von Glasgeräten vor deren Gebrauch auf 450 °C ist empfehlenswert [127].

3.1.2 Isolierung und Anreicherung von Alkylphenoethoxylaten aus flüssigen Matrices

3.1.2.1 Flüssig-Flüssig-Extraktion

Zur Isolierung hydrophober organischer Substanzen aus wässrigen Lösungen ist im allgemeinen die Flüssig-Flüssig-Extraktion eine sehr geeignete Methode, da sie sehr einfach durchzuführen ist. Grenzflächenaktive Substanzen wie APEO weisen jedoch keine eindeutige Präferenz für die organische Phase aus. Vielmehr findet wegen der hydrophilen als auch hydrophoben Gruppen der Tenside in der Regel eine Anreicherung an der Phasengrenzfläche statt. Das Ausschütteln von Tensiden mit einem geeigneten Extraktionsmittel ist dennoch für nicht zu verdünnte wässrige Lösungen möglich.

Dazu wird meistens die Lösung vor der Extraktion mit anorganischen Salzen wie NaCl oder Na₂SO₄ gesättigt, um die Hydratation der hydrophilen Tensidgruppen und die Wasserlöslichkeit des Extraktionsmittels herabzusetzen [179, 320]. Eine Emulsionsbildung, die oberhalb der CMC der Tenside auftritt, kann gewöhnlich durch Begrenzen des Tensidgehaltes im System und den Zusatz eines Elektrolyten oder eines geeigneten Co-Solvens kontrolliert werden [320]. Es wurden verschiedene Extraktionsmethoden berichtet [179]. 4:1 (*v/v*) Trichlortrifluoethan / Trichlormethan soll zur Extraktion aller Tensidtypen geeignet sein. Für die Isolierung von EO-Addukten sowie anderer nichtionischer Tenside gibt man Wasserproben 100 g · l⁻¹ NaCl zu. Die Extraktionsausbeuten sollen bei 80 bis 95 % liegen. Butanol nach Zugabe von 4 % Na₂CO₃ oder K₂SO₄ soll ebenso geeignet sein wie 95 %-iges Ethanol (60 Teile auf 100 Teile Lösung) nach Zusatz von 10 % KCl. Eine Batch-Extraktion zur Bestimmung von APEO in flüssigen, kommerziell erhältlichen Reinigungsprodukten wurde unter Rühren mittels 75:25 (*v/v*) Hexan / Aceton durchgeführt [257]. Aus denselben Proben lassen sich gleichzeitig neben den APEO auch lineare Alkylbenzolsulfonate (LAS) isolieren, wenn mit 1:1 (*v/v*) Methanol / Wasser extrahiert wird. Dichlormethan diente als Lösemittel zur Flüssig-Flüssig-Extraktion von APEO aus verschiedenen Wasserproben, wie z. B. Abwässern aus der Wollverarbeitung [362], Oberflächengewässern [60, 165] und Meerwasser [165]. Üblicherweise wird zur wässrigen Probe NaCl gegeben [337, 362, 394]. Das Ansäuern der Wasserproben ist auch gängige Praxis [165, 337]. Der Zusatz von Tri-*n*-octylphosphinoxid wurde ebenfalls berichtet [60]. Die

Flüssig-Flüssig-Extraktion unter Verwendung von Dichlormethan ist auch zur gleichzeitigen Isolierung der weniger polaren, kurzkettigen APEO mit NP und OP aus Abwasser oder Oberflächenwasser geeignet [355, 360, 394]. Beispielsweise konnten NP mit Extraktionsausbeuten von 87 bis 98 % und NP(EO)₁, NP(EO)₂ und NP(EO)₃ mit 79 bis 100 %-iger Ausbeute aus Abwässern isoliert werden [355, 394]. Sequentielle Extraktion von behandelten Abwässern wurde mit Ethylacetat und Trichlormethan durchgeführt, um neben NPEO auch carboxylierte NPEO-Metaboliten sowie mono- und dicarboxylierte Polyethylenglykole zu isolieren [138]. Die Extraktion dieser Verbindungen mit einem Lösemittel wie Dichlormethan, das schwerer als Wasser ist, ist auch mittels kontinuierlicher Extraktion in einer entsprechenden Apparatur möglich. In diesem Fall betrugen die Wiederfindungsraten 101 % für NP und 87 bis 93 % für die Ethoxylate [355]. Extraktoren zur kontinuierlichen Flüssig-Flüssig-Extraktion können sehr leistungsfähig sein. So wurden APEO und APEC mittels mit Penten stabilisiertem Dichlormethan aus 500 l Trinkwasser bei einer Rate von $10\text{ l} \cdot \text{h}^{-1}$ angereichert [77]. Mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie konnten dann nach dem Trocknen und Einengen über 20 APEO im ppt-Bereich identifiziert werden.

Die mit steigendem Ethoxyierungsgrad zunehmende Hydrophilie der APEO kann bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion dazu führen, dass die im Extrakt ermittelte Molmassenverteilung der APEO sich von der tatsächlichen Verteilung in der Probe unterscheidet, wie anhand von polydispersen NPEO gezeigt werden konnte [16].

Handelt es sich bei der zu analysierenden Probe um eine Emulsion, so ist es oft notwendig die Emulsion zunächst zu brechen. Das kann durch Zugabe von Elektrolyten erreicht werden. Hierbei wird jedoch die Hydratation von Tensiden herabgesetzt, so dass diese mindestens teilweise in die organische Phase übergehen. Ebenfalls zum Brechen von Emulsionen geeignet sind Ethanol und Aceton. Beim Verdünnen mit Wasser und Ausschütteln gehen Tenside dabei in die Wasserphase [179]. Das Zweiphasensystem Acetonitril / *n*-Hexan wurde verwendet, um aus Wasser-in-Öl-Emulsionen, bestehend aus 90 % Öl oder Methyloleat, 5 % Wasser und 5 % NPEO, sowie aus bei der Textilverarbeitung verwendeten Schmalzmitteln NPEO zu isolieren [363]. Öl und Methyloleat wurden mit der *n*-Hexanphase abgetrennt, so dass nach dem Entfernen von Wasser die NPEO in der Acetonitrilphase mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie analysiert werden konnten. Für die untersuchten Proben variierte die Wiederfindung der einzelnen Oligomere zwischen 82 % und 118 %.

Sundaram [364] hat vor der Flüssig-Flüssig-Extraktion von Nonylphenol mit *n*-Heptan aus der Insektizidformulierung Matacil 1.8D sowie den daraus hergestellten Sprühmitteln zunächst das darin enthaltene Insektizid Aminocarb (4-Dimethylamino-*m*-tolyl-*N*-methylcarbamate) hydrolysiert. Dazu wurden 500 µg der Formulierung oder 1,5 mg der

Sprühmischung mit 50 ml 5 %-iger methanolischer $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH, die 1 % NaCl enthält, 4 h bei 40 °C geschüttelt.

3.1.2.2 Ausblasen mit Stickstoff in Ethylacetat

Eine standardisierte Methoden zur Isolierung und Anreicherung von Tensiden aus wässrigen Lösungen besteht im Ausblasen mit Stickstoff in Ethylacetat [20,99]. Diese Methode ist auf Arbeiten von R. Wickbold [402] zurückzuführen. Sie nutzt die Eigenschaften grenzflächenaktiver Stoffe, sich an der jeweiligen Grenzfläche anzureichern. Dabei wird durch die mit Ethylacetat überschichtete Wasserprobe ein Strom von Stickstoff, der mit Ethylacetat gesättigt ist, geleitet. Der Transport der Tenside aus der Wasserprobe in die organische Phase erfolgt mit den Gasblasen an der Wasser/Gas-Grenzfläche.

APEO können z. B. aus Abwasserproben auf folgende Weise isoliert werden [319]: In der Ausblassäule werden 400 ml der filtrierten Wasserprobe mit 4 g NaHCO_3 , 80 g NaCl und 350 ml Wasser vermischt und mit 100 ml Ethylacetat überschichtet. Mittels mit Ethylacetat gesättigtem Stickstoff ($0,5\text{--}1,0 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$) werden 5 min lang die APEO ausgetrieben und in die organische Oberphase überführt. Nach dem Entfernen der organischen Phase wird der Vorgang mit weiteren 100 ml Ethylacetat wiederholt.

Mit dieser Methode konnten Wiederfindungsraten für NP(EO)_3 bis NP(EO)_{13} von über 80 % sowie für $\text{NP(EO)}_1 > 60 \%$ und für $\text{NP(EO)}_2 > 77 \%$ erzielt werden [319]. Für wässrige Lösungen von $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ Marlophen 810 konnten mit der Wickbold-Methode eine Gesamtwiederfindung von 87,4 % erzielt werden, wobei für die Oligomere NP(EO)_3 bis NP(EO)_{11} nahezu 100 % wiedergefunden wurden [4]. Von NP(EO)_3 bis NP(EO)_{11} nahmen die Wiederfindungsraten stufenweise bis auf 70 % ab. Die Wiederfindungsraten hängen von der APEO-Konzentration in der Probe ab und sind mit steigendem Gehalt höher. Die Methode nach Wickbold wurde mehrfach zur Extraktion von APEO aus den unterschiedlichsten Wasser- und Abwasserproben angewandt [4, 117, 143, 180, 319, 340].

3.1.2.3 Festphasenextraktion

Die Festphasenextraktion (SPE) ermöglicht bei in Lösung vorliegenden Proben als leistungsstarke Alternative zu klassischen Extraktionsmethoden gleichzeitig neben der Extraktion von organischen Verbindungen eine Anreicherung der betreffenden Analyten sowie eine Abtrennung von Matrixbestandteilen. Wichtigstes Kriterium bei der Wahl geeigneter Sorbentien ist die Polarität der Analyten und der abzutrennenden Matrixbestandteile. Neben den polaren Sorbentien Kieselgel und Al_2O_3 existieren eine ganze Reihe von Festphasen, die auf chemisch modifiziertem Kieselgel oder auf einem hochgradig quervernetzten Copolymer aus Styrol und Divinylbenzol (PS/DVB) basieren. Die chemische

Modifizierung mit geeigneten Gruppen führt zu Sorbentien mit unpolaren bis polaren Eigenschaften sowie zu Ionenaustauschern. Wobei Materialien auf PS/DVB-Basis eine höhere pH-Stabilität und eine größere spezifische Oberfläche auszeichnet. Alternativ dazu steht graphitisierter Kohlenstoff (GCB¹) zur Verfügung.

Sehr weit verbreitete, universell einsetzbare Sorbentien zur Extraktion und Anreicherung von organischen Verbindungen aus wässrigen Lösungen sind *n*-Octylsiloxane (C8) und *n*-Octadecylsiloxane (C18). Bei der APEO-Extraktion von wässrigen Proben mit C8- oder C18-Phasen kann je nach Matrix nach der Anreicherung eine sequentielle Elution mit unterschiedlich polaren Lösemitteln notwendig sein. Bei der Extraktion von APEO und Alkylphenolen aus Oberflächenwässern [325], marinen Wasserproben [127, 129, 257] und Abwasserproben [128, 251] wurden C18-Sorbentien eingesetzt. Neben NPEO und Nonylphenol können auch LAS isoliert werden [257, 251]. Die Desorption der Analyten erfolgte in allen Fällen mit Aceton. Bei der Anreicherung aus Meerwasser wurde zum Entfernen von Salzen zunächst mit Wasser gespült [257]. Auch Methanol ist zur Desorption von APEO neben Alkylphenolen, weiteren APEO-Metaboliten oder LAS von C18-Sorbentien geeignet [39, 94, 185, 194, 230, 252, 298, 300, 303, 306, 325]. Ethylacetat / Dichlormethan 1:1 (*v/v*) wurde ebenfalls zu diesem Zweck verwendet [41]. Sequentielle Elution ermöglicht die Trennung neutraler Analyten, unter anderem NPEO, von sauren Analyten [59, 237]. NPEO und weitere neutrale Tenside lassen sich zunächst mit Dichlormethan / Methanol 9:1 (*v/v*) eluieren [59]. Wird Dichlormethan / Methanol 9:1 (*v/v*) mit Essigsäure ($2\text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$) angesäuert, so können neben NPEO ($n_{EO} = 1$ und 2) auch NPEC isoliert werden [91]. Zur Bestimmung von Alkoholethoxylaten (AEO), NPEO und LAS in behandelten und unbehandelten Abwässern wurde ebenfalls eine sequentielle Elution mit *n*-Hexan / Diethylether 8:2 (*v/v*), Diethylether, Methanol / Wasser 2:8 (*v/v*) und Methanol von C18 untersucht [237]. NPEO ließen sich in der Diethylether-Fraktion mit 20 bis 30 % und in der Methanol-Fraktion mit 65 bis 70 % wiederfinden.

Eine spezielle SPE-Methode zur Anreicherung von APEO aus Flusswasser wurde mit Hilfe einer analytischen C18-Trennsäule und eines Flüssigkeitschromatographen entwickelt [283]. Zunächst findet eine Anreicherung der Analyten auf der C18-Phase statt, indem die wässrige Probe durch die Säule gepumpt wird. Desorption und Trennung der unterschiedlichen APEO (OPEO, NPEO und DDPEO) wurde durch Gradientenelution mit Methanol / Wasser von 50 bis 0 %-igen Wasseranteil erreicht. Das Sammeln der Fraktionen wurde erleichtert durch ein Monitoring der UV-Absorption bei 280 nm. Dieselbe Methode diente auch zum Clean-up von Extrakten [267].

Die Anwendung von reinen Kieselgelkartuschen ist zur Isolierung von APEO aus Pestizidformulierungen geeignet. Eine typische Prozedur, die die Abtrennung unterschied-

¹GCB, englisch „Graphitised Carbon Black“

lich polarer Pestizide (Alachlor, Bupirimate, Chlorfenvinphos, Chlorprofam, Lindan, 2-Methyl-4,6-dinitrophenol, Parathion, Permethrin und Triallate) und Additive (Heizöl, aromatisches Prozessöl, Shellsol K) von den nichtionischen Tensiden $\text{NP}(\text{EO})_n$ und $\text{OP}(\text{EO})_n$ ($n_{\text{EO}} = 1$ bis 19) sowie den anionischen Alkylbenzolsulfonaten (ABS, Decyl bis Tetradecyl) ermöglicht, ist die folgende [323]:

5 ml einer 50-fach mit Hexan / Dichlormethan 1:1 (v/v) verdünnten Probe wird zunächst auf die Kieselgelkartusche aufgebracht und aufeinanderfolgend mit je 5 ml Hexan / Dichlormethan 1:1 (v/v), 5 ml Dichlormethan und 5 ml Dichlormethan / Methanol 99:1 (v/v) (oder je nach Polarität des Pestizids 98:2 (v/v)) gespült. Die Elution von APEO und ABS erfolgt darauf mit 5 ml Methanol. Um APEO zusätzlich von ABS zu isolieren, kann die Elution anstatt mit Methanol mit Dichlormethan / Methanol 8:2 (v/v) über eine Aminoalkylsiloxankartusche durchgeführt werden. Stören ionische Bestandteile in der Probe die Analyse, so hat sich zur Extraktion von $\text{NP}(\text{EO})_n$ mit $n_{\text{EO}} = 2$ bis 17 eine Doppelsäulensmethode bewährt [216, 279]. Bei dieser Methode werden zwei SPE-Säulen hintereinander gekoppelt. Zunächst wird die Probe zum Entfernen aller ionischen Bestandteile über einen Mischbett-Ionenaustauscher geleitet (Zusatz von Methanol zur Probe erhöht die Wiederfindung), um danach die NPEO an einer C18-Phase anzureichern. Die Extraktion der NPEO von der C18-Phase erfolgte mittels 55 °C warmen Methanol.

Diese Methode hat neben ihrer Anwendung für Wasserproben auch das Potential für andere flüssige Proben. So diente sie Corsi et al. [82] bei der Bestimmung von APEO neben anderen Additiven in verschiedenen, auf Glycol-Basis beruhenden Enteisungsmitteln und Vereisungsinhibitoren. Alle neun untersuchten Mittel kamen am General Mitchell International Airport in Milwaukee zum Einsatz, um Tragflächen und Rumpf der behandelten Flugzeuge entweder von Eis und Schnee zu befreien oder vor Vereisung zu bewahren. Aufstockungsexperimente mit gemischten NPEO ergaben Wiederfindungsraten von 67 bis 106 %. Eine ähnliche Methode verwendeten Scullion et al. [325], die C18-Phasen in Serie mit starken Anionenaustauschern verwendeten, um aus Oberflächenwässern bei der Analyse störende anionische Verbindungen zu entfernen. Wird nach der Extraktion mit Wasser / Methanol 7:3 (v/v) gewaschen und die APEO mit Methanol desorbiert, werden z. B. LAS zurückgehalten.

Festphasenextraktion wurde auch auf GCB zur Isolierung und Anreicherung von NPEO mit bis zu 22 Oxyethyleneinheiten aus Abwässern [8] und Oberflächen- sowie Trinkwässern [178, 332] erfolgreich eingesetzt. Die lipophileren Metaboliten Nonylphenol, $\text{NP}(\text{EO})_1$ und $\text{NP}(\text{EO})_2$ eingeschlossen, wurden im ersten Fall nicht mittels GCB extrahiert, sondern mit Hilfe der Flüssig-Flüssig-Extraktion in *n*-Hexan. Bei der Extraktion mit GCB werden neben NPEO auch AEO [83, 255] und LAS [107, 112] sowie eine Reihe unterschiedlicher Umweltmetaboliten der NPEO und LAS, NPEC eingeschlossen, angereichert

[107, 112, 178]. Desorption der NPEO und AEO vom Extraktionsmedium kann mit 20 bis 30 % (v/v) Methanol in Dichlormethan erfolgen [83, 255]. Dabei werden NPEO und AEO von sauren Verbindungen wie LAS sowie sauren NPEO- und LAS-Biointermediaten abgetrennt [83, 107]. Anhand von Aufstockungsexperimenten mit behandeltem und unbehandeltem Abwasser sowie mit Fluss- und Trinkwasser konnten Wiederfindungsraten für die Extraktion von NPEO mittels GCB von 96 bis 98 % ermittelt werden [83]. Unter sauren Bedingungen (Zusatz von $25 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ Ameisensäure) können mit Dichlormethan / Methanol 9:1 (v/v) NPEO ($n_{EO} = 1$ bis 3) auch zusammen mit Nonylphenol und den carboxylierten sowie dicarboxylierten NPEO-Metaboliten vom GCB-Sorbens gespült werden [111, 112].

Sorbentien auf Polymerbasis wurden ebenfalls verwendet. PS/DVB-Harze wie Amberlite XAD-2 [143] oder Amberlite XAD-16 [267, 406, 407] wurden zur Isolierung von APEO aus Abwässern und Flusswasser verwendet. Desorption kann mittels sequentieller Elution mit Ethylether, Ethylether / Methanol 1:1 (v/v) und Methanol [143] oder Wasser und Methanol [267] erfolgen. Es kann auch nur mittels Methanol desorbiert werden [407]. Im Anschluss wird häufig ein Clean-up der Extrakte mit Hilfe von Ionenaustauschersäulen durchgeführt [143, 267, 406, 407]. Es konnten Extraktionsausbeuten im Bereich von 92 bis 97 % erzielt werden [143]. Sequentielle SPE mit Kombination von C18- und PS/DVB-Kartuschen (z. B. Isolute ENV+) bei differentieller Elution wurde zur Isolierung von NPEO und AEO, deren Abbauprodukten Polyethylenglycol (PEG), NPEC und Alkoholethoxycarboxylat sowie weiteren Verbindungen aus diversen Zufluss-, Abfluss- und Klärschlammproben einer Kläranlage eingesetzt [58].

Die sequentielle SPE mit C18 und PS/DVB diene ebenfalls zur Extraktion unterschiedlichster, sehr komplexer Abwässer, die unter anderen NPEO, LAS, PEG und AEO enthielten [56, 57]. Um neben APEO auch verschiedene Phenole, aromatische Sulfonate, LAS, Farbstoffe, Pestizide, Pharmazeutika, Dichlorbenzidin und eine Reihe von Metaboliten zu identifizieren, wurde zur Extraktion von diversen Abwässern und Oberflächengewässern ebenfalls sequentielle SPE angewandt [239]. In diesem Fall wurde C18-SPE mit Ionenpaar-SPE kombiniert, da einige sehr polare Komponenten wie z. B. Sulfonate und niedere Carbonsäuren nicht auf C18-Sorbentien adsorbiert werden. Diese Verbindungen wurden in einem zweiten Extraktionsschritt auf einem polymeren Sorbens (Oasis HLB) adsorbiert und mittels Ionenpaarextraktion als dritte Fraktion desorbiert. APEO werden dabei bereits auf C18 angereichert. Desorption der APEO gemeinsam mit den Pestiziden von der C18-Phase erfolgt in der zweiten Fraktion mittels Methanol / Aceton / Ethylacetat 2:2:1 (v/v) und 0,1 % Ameisensäure, wobei der größte Teil der Alkylphenole und ein kleiner Teil der AP(EO)_1 bereits mit der ersten Fraktion mit n -Hexan / Dichlormethan 3:1 (v/v) eluiert werden. 2.2.4

3.1.2.4 Festphasenmikroextraktion

Die Festphasenmikroextraktion (SPME) ist wie die SPE ebenfalls zur Extraktion und Anreicherung von APEO aus wäßrigen Proben geeignet. Boyd-Boland und Pawliszyn [45] haben verschiedene SPME-Fasern zur Extraktion vor der flüssigkeitschromatographischen Analyse von APEO mit Normalphasen getestet. Die Liste der untersuchten Fasern reicht von kommerziell erhältlichen Polyacrylaten und Polydimethylsiloxanen (PDMS) über Carbowax/Templateharz (CWAX/TR), Carbowax/Divinylbenzol (CWAX/DVB), Polydimethylsiloxan/Templateharz (PDMS/TR) und Polydimethylsiloxan/Divinylbenzol (PDMS/DVB) bis hin zu Cyclodextrin. Zur Desorption der Analyten ist ein spezielles Interface erforderlich. Dabei hat sich herausgestellt, dass die Verwendung von CWAX/TR zur besten Übereinstimmung in der Oligomerenverteilung von Triton X-100, einem polydispersen OPEO mit $\bar{n}_{EO} = 10$, vor und nach der Extraktion führt. Mittels Gradientenelution und UV-Detektion bei 220 nm ist eine Analyse von APEO in einem linearen Bereich von 0,1 bis $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ mit Nachweisgrenzen für die einzelnen Ethoxymere im unteren ppb-Bereich möglich.

Aranda et al. [23] haben festgestellt, dass polykristallines Graphit als Sorbens für die SPME bei der Bestimmung von APEO mittels Umkehrphasen-Flüssigkeitschromatographie und Fluoreszenzdetektion PDMS/DVB und CWAX/TR ebenbürtig ist. Vorteil von Graphitsorbentien sind die hohe chemische Stabilität und die geringeren Kosten.

Auch die SPME in Verbindung mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) unter Anwendung der sogenannten Headspace-Technik ist zur Bestimmung von Nonylphenol, NP(EO)₁ und NP(EO)₂ sowie deren sauren Metaboliten NPEC geeignet, wenn eine In-Probe-Derivatisierung durchgeführt wird. Díaz et al. [91] haben mit dieser Technik Fluss- und Leitungswasser untersucht. Mit Dimethylsulfat im Überschuss wurden bei 60 °C unter basischen Bedingungen ($5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH) NPEO zu den Methylethern und NPEC zu den Methylestern derivatisiert. Aus dem Gasraum überhalb dieser Lösung wurden gleichzeitig Nonylphenol und die derivatisierten NPEO bzw. NPEC mit CWAX/DVB-Fasern 60 min lang extrahiert und mittels GC-MS analysiert. SPME-GC-MC diente auch zur simultanen Bestimmung von Nonylphenol, NP(EO)₁, NP(EO)₂ und deren bromierten Derivaten in Rohwässern und behandelten Wässern im unteren $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ -Bereich [90]. Zur Anreicherung wurden DVB/Carboxen/PDMS-Fasern verwendet.

3.1.2.5 Wasserdampfdestillation/Lösemittlextraktion

Die Wasserdampfdestillation mit kontinuierlicher Lösemittlextraktion in einer von Veith und Kiewus [389] konzipierten Apparatur ist dazu geeignet, wasserdampfflüchtige Verbindungen sowohl aus festen als auch aus wässrigen Proben zu extrahieren. Der Einsatz

dieser Methode beschränkt sich damit aber auf die Extraktion von AP(EO)_n mit $n_{\text{EO}} < 3$, da die Extraktionsausbeuten mit zunehmender Länge der Polyoxyethylengruppe dramatisch absinken [3, 376]. Ursache hierfür sind die sinkende Flüchtigkeit sowie die ansteigende Wasserlöslichkeit [5, 6]. Für NP(EO)_3 betragen die Extraktionsausbeuten lediglich 15 % [3].

Die Extraktion erfolgt in der Regel mit Cyclohexan oder anderen Lösemitteln, die wenig in Wasser löslich sind und eine geringere Dichte als Wasser aufweisen, wobei üblicherweise NaCl der wässrigen Probe zugesetzt wird. Bei der Extraktion fester Proben wird mit einem geeigneten Volumen Wasser aufgefüllt. Sollen ebenfalls Alkylphenole extrahiert werden, ist eine Einstellung des pH-Wertes erforderlich, um eine Dissoziation der phenolischen Verbindungen zu vermeiden, da Phenolate nicht bzw. kaum wasserdampfflüchtig sind. Für 4-NP ist ein pH-Wert von 7,0 bis 7,5 geeignet [3]. Die Wasserdampfdestillation mit gleichzeitiger Lösemittlextraktion wurde zur Extraktion von Flusswässern [3, 199, 242] und von geklärten und ungeklärten Abwässern [3, 149, 242, 304] eingesetzt.

3.1.3 Isolierung und Anreicherung von Alkylphenoethoxylaten aus festen Matrices

Es existiert eine ganze Reihe leistungsstarker Methoden, mit der eine Extraktion von APEO aus Feststoffproben möglich ist. Diese wurden hauptsächlich zur Extraktion von APEO und deren Abbauprodukten aus festen Umweltmatrices wie Sedimenten, Schlämmen, Böden oder biologischen Geweben eingesetzt. Einen detaillierten Überblick geben Petrović und Barceló [294].

Handelt es sich um leicht zu extrahierende feste Proben wie etwa pulverförmige Waschmittel, so können APEO bereits durch kräftiges Rühren einer methanolischen oder ethanolischen Suspension quantitativ extrahiert werden [253]. Mit alkoholischen Extraktionsmittel werden andere Tenside wie z. B. LAS ebenfalls vollständig extrahiert. Auch andere Lösemittel wie *n*-Hexan sind dazu geeignet. So ist beispielsweise zur Extraktion von mit NPEO imprägnierten Wollfasern neben warmen Methanol auch Dichlormethan geeignet [139].

Auch eine Homogenisierung von Fisch- und Schalentiergeweben mit Acetonitril und wasserfreiem Na_2SO_4 ist zur Isolierung von NP(EO)_1 , NP(EO)_2 und Nonylphenol sowie Octylphenol geeignet [380, 382]. Eine Entfernung von Lipiden aus den Extrakten kann durch Verteilung zwischen Acetonitril und *n*-Hexan erreicht werden. Nach weiterem SPE-Clean-up wurden auf diese Weise extrahierte Proben mit der Flüssigkeitschromatographie und Fluoreszenzdetektion analysiert [380].

Von Ausnahmen, wie sie oben geschildert wurden, abgesehen, werden in der Regel aber die nachfolgend beschriebenen, leistungsstärkeren Methoden verwendet.

3.1.3.1 Wasserdampfdestillation/Lösemittlextraktion

Wie bereits in **Abs. 3.1.2.5** erwähnt wurde, ist die Wasserdampfdestillation mit kontinuierlicher Lösemittlextraktion eine geeignete Methode, um aus festen Proben z. B. mit Cyclohexan oder Isooctan AP und AP(EO)_n mit $n_{EO} < 3$ zu extrahieren. Sie wurde zur Extraktion von Sedimenten [3, 39, 199, 242], Klärschlämmen [3, 117, 253], Böden [3] und Fischgeweben [199, 200, 242, 345] erfolgreich angewandt. Mit Isooctan als Extraktionsmittel ließen sich beispielsweise bei der Extraktion von Fischgeweben für NPEO Wiederfindungsraten von 69 bis 78 % erzielen [200, 345], mit Cyclohexan 102 % für NP(EO)₁ [242].

2.3.2

3.1.3.2 Soxhlet-Extraktion

Extraktion von APEO aus Feststoffen oder getrockneten Proben kann mit Methanol in einer Soxhlet-Apparatur durchgeführt werden. Je nach Art der Probe muss unterschiedlich lange extrahiert werden. Für pulverförmige Detergentien reicht eine Extraktionszeit von 30 min, wobei Schlämme 4 h und Böden oder Sedimente sogar 12 h extrahiert werden müssen [253].

Dies geschieht typischerweise, indem 500 mg des Detergens, 2 g des getrockneten Klärschlammes oder 20 g des getrockneten Bodens bzw. Sediments in einer vorextrahierten Papierhülse nach Zugabe von 20 % (*w/w*) Natriumhydroxid mit 80 ml Methanol extrahiert werden [253].

Mit Methanol werden auch gleichzeitig Alkylphenole [94, 95] und LAS [39] extrahiert. Nach vorheriger Homogenisierung wurde meist unter Zusatz von Na₂SO₄ zur Extraktion von NP(EO)₁, NP(EO)₂ und Nonylphenol sowie Octylphenol aus Sedimenten [38, 35, 36, 161, 185], Muschelgeweben [36, 35], Fischgeweben [41] und Schlämmen von Papierrecyclinganlagen [164] Dichlormethan als Extraktionsmittel eingesetzt. Bei Verwendung von Dichlormethan als Extraktionsmittel sind die Wiederfindungsraten für NP(EO)₁ und NP(EO)₂ in der Regel deutlich über 80 %. Ein weiteres verwendetes Extraktionsmittel ist beispielsweise *n*-Hexan / 2-Propanol 7:3 (*v/v*) [330].

3.1.3.3 Ultraschall-Lösemittlextraktion

Mit Hilfe der Ultraschall-Lösemittlextraktion kann im Vergleich zur Soxhlet-Extraktion gewöhnlich deutlich Zeit gespart werden, da meistens nie länger als 1 h extrahiert werden muss. Außerdem sind die benötigten Lösemittelmengen im Allgemeinen mit 30 bis 60 ml geringer. Die Lösemittelsysteme die bei der Extraktion von APEO zu den besten Ergebnissen führen sind Methanol / Dichlormethan 7:3 (*v/v*) [290, 298] und *n*-Hexan/Aceton 6:4 (*v/v*) [330].

Shang et al. [330] konnten beispielweise mit dieser Technik für die Extraktion von Sedimenten gleiche Wiederfindungsraten erreichen wie mit einer Soxhlet-Extraktion von 18 h. Die Ultraschall-Lösemittelextraktion diente unter anderem zur Extraktion von Sedimenten [38, 41, 293, 298, 330] und Klärschlämmen [58, 224, 290, 298].

Ultraschall wurde auch eingesetzt zur kontinuierlichen Hochtemperatur-Extraktion von Sedimenten mit Methanol [127, 128, 129]. Um niedere APEO und Alkylphenole aus Sedimenten zu extrahieren, wurde eine $150\text{ mm} \times 4,6\text{ mm}$ I.D. Stahlsäule mit 1 bis 2 g der getrockneten Probe befüllt. Das restliche Volumen wurde mit gereinigtem Sand aufgefüllt. Zur Extraktion wurden darauf insgesamt 3,5 ml Methanol mit einer Flussrate von $0,5\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ durch die Säule gepumpt, während diese in ein auf 65°C geheiztes Ultraschallbad eintauchte. Für diese Methode ließen sich mit Hilfe von ^{13}C -markierten Verbindungen Wiederfindungsraten von 80 bis 94 % für Nonylphenol, NP(EO)₁, NP(EO)₂ und NP(EO)₃ ermitteln [127].

3.1.3.4 Überkritische Fluidextraktion

Von Kreisselmeier und Dürbeck [215] wurden systematische Untersuchungen zur gleichzeitigen Extraktion von APEO, Alkylphenolen und LAS aus Sedimenten mittels überkritischer Fluidextraktion durchgeführt. Optimierung aller Parameter zeigte, dass eine simultane Extraktion von APEO, Alkylphenolen und LAS aufgrund des unterschiedlichen Sorptionsverhaltens der Analyten an den Sedimenten nur sehr schwer zu bewerkstelligen ist, und führte zu einer mehrstufigen Extraktionsmethode.

Eine Extraktion kann wie folgt durchgeführt werden [215]:

1 g der Sedimentprobe wird mit 0,75 g Kupferpulver (verhindert Extraktion von elementarem Schwefel) vermischt, in eine 5-ml-Extraktionskammer gefüllt und verdichtet. Nach dem Füllen der Kammer mit Glasperlen wird der verbleibende Zwischenraum mit Methanol aufgefüllt. Die Extraktion erfolgt zunächst in einem statischen Schritt bei 100°C und 150 atm für 10 min. Danach erfolgt ein dynamischer Extraktionsschritt von 5 min mit Methanol bei 100°C , 150 atm und einer Flussrate von $1\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und ein weiterer dynamischer Extraktionsschritt von 30 min mit 27,5 % (v/v) Methanol in Kohlenstoffdioxid bei 100°C , 450 atm und einer Flussrate von $1\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Beim dynamischen Extraktionsprozess werden die Analyten in einer Falle bei -5°C auf silanisierten Glasperlen adsorbiert und anschließend bei 40°C mit Methanol eluiert. Die Wiederfindungsraten betragen für NPEO 85 % und für OPEO 65 %.

Lee et al. [230, 231, 232] verwendeten Wasser als statischen Modifier bei der Extraktion von NPEO und NPEC aus getrockneten Faul- und Belebtschlammproben mit überkritischem CO_2 . Dazu wurden 0,1 bis 1 g der Probe vor der Extraktion mit 2 ml Wasser je g Probe in der Extraktionshülse versetzt. Zur Isolierung von NPEO fand zunächst

10 *min* statische Extraktion statt, darauf 15 *min* dynamische Extraktion mit CO₂ bei 80 °C, ca. 352 *kPa* und einer Flussrate von 2 *ml* · *min*⁻¹. Die Analyten wurden in einer Falle bei 10 °C an Octadecylsiloxan adsorbiert und später bei 60 °C mit Methanol desorbiert. Aufstockungsexperimente mit Sedimenten ergaben für NPEO mit $n_{EO} = 1$ bis 17 Wiederfindungsraten von 85 bis 105 %.

3.1.3.5 Lösemittlextraktion unter Druck

Die Lösemittlextraktion unter Druck (PLE² oder ASE³) ermöglicht im Vergleich zu klassischen Extraktionsmethoden eine Reduktion des Lösemittelbedarfs und der Extraktionszeit bei gleichzeitig hohem Grad an Automatisierung [110, 302, 331, 385]. Eine schnelle und effiziente Extraktion mit geringen Volumina an Lösemitteln bei stark erhöhten Temperaturen ist dadurch möglich, dass durch eine Erhöhung des Drucks das Extraktionsmittel auch oberhalb der Siedetemperatur in der flüssigen Phase gehalten wird. Zur Extraktion von APEO und Alkylphenolen können dieselben Lösemittel verwendet werden wie zur Soxhlet-Extraktion, so dass lediglich eine Optimierung der Extraktionszeit und -temperatur notwendig ist [110].

Bei der Extraktion von Sedimenten konnte bei gleicher Extraktionsausbeute im Vergleich zur Soxhlet-Extraktion mit 40 *ml* anstatt mit 400 *ml* Dichlormethan bei einer gleichzeitigen Reduzierung der Extraktionszeit von 24 *h* auf 1 *h* extrahiert werden [161]. Mit demselben Extraktionsmittel wurden NP und NPEO mit $n_{EO} = 1$ bis 5 aus Fischgeweben mit durchschnittlich 85 % Wiederfindung extrahiert [89]. Dazu wurde das Gewebe zusammen mit Na₂SO₄ homogenisiert und mit Dichlormethan extrahiert. Entsprechende Extraktionsausbeuten lassen sich auch mit Methanol bei 100 °C und 100 *atm* erreichen [385].

Isolierung von APEO, Alkylphenol und Bisphenol A aus Sedimenten wurde beispielsweise auch mit *n*-Hexan / Aceton durchgeführt, indem 0,5 bis 1 *g* der Probe 15 *min* lang bei 100 °C und 150 *atm* in einem statischen Extraktionsschritt und dann mit 20 *ml* Lösemittel in einem Spülschritt extrahiert wurden [165]. Das System Methanol / Aceton 1:1 (*v/v*) bei 50 °C und 103 *bar* wurde zur Extraktion von APEO, Alkylphenolen und APEC aus Sedimenten verwendet [302]. Höhere Temperaturen führen zu Verlusten der Alkylphenole. Wenn nur NPEO in Sedimenten untersucht werden sollen, kann auch bei 100 °C extrahiert werden [331]. 2.3.6

3.1.3.6 Mikrowellenunterstützte Lösemittlextraktion

Die mikrowellenunterstützte Lösemittlextraktion für die simultane Bestimmung von NP und NPEO in Sedimenten aus Flüssen wurde von Croce et al. [84] untersucht. Es zeigte

²PLE, englisch „pressurized liquid extraction“

³ASE, englisch „accelerated solvent extraction“

sich, dass Methanol ein effektiveres Extraktionsmittel darstellt als Aceton / *n*-Hexan, der Einfluss des Lösemittelvolumens signifikanter ist als der Einfluss der Extraktionszeit und die mikrowellenunterstützte Lösemittelextraktion der Lösemittelextraktion unter Druck ebenbürtig sowie der Soxhlet-Extraktion überlegen ist. Zur Extraktion von Octylphenol aus Muskel- und Lebergewebe von Fischen mit Dichlormethan / Methanol 2:1 (*v/v*) [288] und zur Extraktion von Nonyl- und Octylphenol sowie NPEO und NPEC aus Muschelgewebe mit Aceton / *n*-Hexan 1:1 (*v/v*) [60] wurde diese Methode ebenfalls angewandt.

3.1.3.7 Matrix-Festphasen-Dispersion

Die Matrix-Festphasen-Dispersion (MSPD⁴) ist eine weitere Alternative um APEO und AP aus biologischen Geweben wie z. B. Muskelgewebe von Fischen [413] oder Muscheln [95, 413] zu isolieren. Zhao et al. [413] haben für diesen Zweck eine MSPD-Methode mit sequentielltem Clean-up optimiert. Es wurden in einem Mörser 0,5 bis 1 g biologisches Gewebe solange mit 2 bis 3 g eines mit Methanol gewaschenen C18-Sorbens zerrieben, bis ein rieselfähiges Pulver erhalten wurde. Dieses wurde dann in eine 20-ml-Glasspritze überführt, die mit einem 0,2- μ m-Spritzenvorsatzfilter versehen war und am unteren Ende eine oben und unten mit 0,45- μ m-Filtern begrenzte Schicht aus 3 g deaktiviertem Al₂O₃ enthielt. Es wurden insgesamt 18 ml Methanol mit dem Kolben durch die beiden Schichten gepresst und aufgefangen. Der methanolische Extrakt konnte nach dem Einengen direkt analysiert werden. Für NPEO mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 4 wurden für diese MSPD-Methode Wiederfindungsraten von 100 % bei Fischmuskelgewebe und 101 % bei Muschelgewebe ermittelt [413].

3.1.4 Clean-Up von Alkylphenoethoxylatextrakten

Grundsätzlich ist die Säulenchromatographie, sei es mit SPE-Kartuschen oder mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, zum Clean-Up von APEO-Extrakten geeignet, da sich mit ihr sehr gut unterschiedlich polare Komponenten auftrennen lassen. In der Regel ist ein Clean-Up nach einer Extraktion von APEO aus festen Umweltproben wie etwa Klärschlämmen oder Sedimenten anzuraten, da die Anwendung von notwendigerweise eher drastischen Extraktionsverfahren dazu führt, dass ein großer Teil der Matrix mitextrahiert wird.

SPE-Kartuschen mit C18-Sorbentien sind zu diesem Zweck weit verbreitet [39, 41, 95, 298, 302]. Sequentielle Elution mit unterschiedlich polaren Lösemitteln ist häufig vorteilhaft [58, 290]. Auch Cyanophasen fanden hin und wieder ihre Anwendung, besonders für eine relativ breite Oligomerenverteilung von z. B. NPEO mit $n_{EO} = 1$ bis 19 [330, 331]. Ein

⁴MSPD, englisch „matrix solid-phase dispersion“

weiteres geeignetes Säulenmaterial ist deaktiviertes Kieselgel [35, 36, 39, 185], aber auch Aminosiloxan [89, 127, 129].

Anionenaustauscher wurden verwendet, um methanolische NPEO-Lösungen nach SPE von Abwasser- [143] und Flusswasserproben [267] mit PS/DVB aufzuarbeiten. Mischbett-anionenaustauscher können verwendet werden, um gleichzeitig anionische und kationische Bestandteile der Matrix wie beispielsweise ionische Tenside in einem Clean-Up-Schritt von den APEO abzutrennen [319, 406, 407].

Häufig wird auch zum Clean-Up von APEO-Extrakten deaktiviertes Aluminiumoxid verwendet, wie z. B. nach der Wasserdampfdestillation/Lösemittelextraktion mit Cyclohexan von NP(EO)₁, NP(EO)₂ und NP aus verschiedenen Proben von Flüssen und Klärwerken [3]. Desorption von NPEO und NP erfolgte mit Methanol / Dichlormethan 1:1 (*v/v*) nachdem zuvor Kohlenwasserstoffe und Phthalate mittels Dichlormethan abgetrennt wurden. Nach der Anreicherung von APEO durch Ausblasen mit N₂ in Ethylacetat wurde ebenfalls ein Clean-Up mit Al₂O₃ durchgeführt, wobei Desorption der APEO mit Methanol erfolgte [4]. Es gibt noch eine Reihe weiterer Anwendungen von Al₂O₃ beim Clean-Up mittels SPE [41, 95, 127, 242].

Deaktiviertes Al₂O₃ in Kombination mit AgNO₃ imprägniertem Kieselgel und Na₂SO₄ wurde ebenfalls zum Clean-Up von APEO- und AP-Extrakten verwendet [94]. Dabei wurde sequentiell eluiert. Kieselgel/Al₂O₃ (Florisil PR) in Kombination mit Na₂SO₄ fand weitere Anwendung [380].

Sequentielle SPE mit C18- und PS/DVB-Kartuschen in Serie diente auch zum Clean-Up nach Ultraschall-Lösemittelextraktion mit Methanol/Chloroform bei der Bestimmung von APEO, AEO, PEG, NPEC und LAS in Klärschlämmen [224].

Fraktionierung mittels semipräparativer Umkehrphasen-HPLC mit zwei analytischen C18-Säulen in Serie wurde beispielsweise durchgeführt, um für eine APEO- und Alkylphenolanalyse methanolische Extrakte einer kontinuierlichen Ultraschall-Hochtemperatur-extraktion von Sedimenten, die bereits mittels SPE-Clean-Up gereinigt wurden, aufzuarbeiten [127, 128, 129]. Als Clean-Up diente auch eine Fraktionierung mittels Normalphasen-HPLC von Isooctanextrakten nach Wasserdampfdestillation von Fischgeweben [200, 345], von Dichlormethan / *n*-Hexan-Extrakten nach SPE von Wasserproben [346, 347] und von *n*-Pentanextrakten nach Flüssig-Flüssig-Extraktion von Meerwasser [39]. Weiterhin fand Gelpermeationschromatographie zum Aufarbeiten von *n*-Hexanextrakten verschiedener organischer Kontaminanten, NP(EO)₁, NP(EO)₂ und NP eingeschlossen, ihre Anwendung [360]. Vom Clean-Up von Sedimentextrakten mittels Größenausschlusschromatographie mit anschließender Reinigung der niedermolekularen Fraktion durch Normalphasen-Flüssigkeitschromatographie wurde ebenfalls berichtet [161].

3.2 Flüssigkeitschromatographie von Alkylphenol-ethoxylaten

Die Trennung von APEO mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) wurde sowohl mit Normalphasen-Systemen (NPLC) als auch unter Verwendung von Umkehrphasen (RPLC) durchgeführt. Dabei sind NPLC und RPLC komplementäre Methoden, da mit NP-Systemen eine Trennung in Abhängigkeit von der Anzahl der Oxyethyleinheiten n_{EO} erfolgt. Im Gegensatz dazu hängt die Trennung bei der RPLC vom Alkylrest am aromatischen Ring ab. Ebenfalls geeignet zur Trennung von APEO in ihre verschiedenen Ethoxymere ist die Größenausschlusschromatographie (SEC). Bei der Bestimmung von APEO mittels Flüssigkeitschromatographie finden am häufigsten UV-Absorptionsdetektoren (UVD), Fluoreszenzdetektoren (FLD) sowie Massenspektrometer (MS) Anwendung.

3.2.1 Flüssigkeitschromatographie mit Normalphasen

Wie bereits erwähnt wurde, können APEO in Abhängigkeit von der Kettenlänge ihrer Polyoxyethylengruppe mittels NPLC in ihre Homologe aufgetrennt werden, wobei die Retardierung der APEO auf NPLC-Säulen mit ansteigendem Ethoxylierungsgrad stärker wird. Allerdings coeluieren solche Ethoxymere, die die gleiche Anzahl an Oxyethylengruppen aufweisen aber unterschiedliche Alkylsubstituenten tragen. Eine Differenzierung zwischen NPEO und OPEO ist ohne massenspektrometrische Detektion mittels NPLC daher nicht möglich. Es lässt sich jedoch die Ethoxymereverteilung von APEO-Mischungen untersuchen.

In der Regel werden zu diesem Zweck Säulen mit polaren oder mäßig polaren stationären Phasen verwendet. Solche Packungsmaterialien sind reines Kieselgel, chemisch gebundene Normalphasen des Amino-, Cyano- und Dioltyps sowie Aluminiumoxid. Da industrielle APEO-Mischungen in der Regel eine breite Oligomerenverteilung aufweisen, kann eine zufriedenstellende Trennung meistens nur mit binärer oder ternärer Gradientenelution erreicht werden. Handelt es sich um Mischungen mit einer weniger breiten Verteilung der APEO-Ethoxymere, so kann auch isokratische Elution erfolgreich sein. Sehr häufig kommen als unpolare Lösemittel *n*-Alkane und als polarere Lösemittel aliphatische Alkohole zum Einsatz.

Die am weitesten verbreiteten chemisch gebundenen Normalphasen zur Trennung von APEO sind Aminosiloxane. Diese wurden mit unterschiedlichen mobilen Phasen erfolgreich zur Trennung von APEO-Mischungen mit sowohl kleinen ($\bar{n}_{EO} = 0$ bis 4) als auch sehr großen, mittleren Ethoxylierungsgraden (bis $\bar{n}_{EO} = 40$) eingesetzt. Eine sehr gute

Auflösung zwischen den einzelnen APEO-Ethoxymeren wird mittels isokratische Elution auf Aminosiloxanphasen erzielt, wenn die Ethoxymerenverteilung in einem Bereich von $n_{EO} = 1$ bis 4 liegt. Zufriedenstellende Auflösungen sind nur möglich bis maximal 10 EO-Einheiten. Die Verwendung von kurzen Säulen mit sphärischen 3- oder 5- μm -Packungsmaterialien hat sich hierzu bewährt. Für die isokratische NPLC von APEO geeignete mobile Phasen sind 1,5 bis 2 % (v/v) 2-Propanol in *n*-Hexan [5, 6, 14, 164, 253] und 3,5 % (v/v) Wasser in Acetonitril [363]. Isokratische Elution mit unterschiedlichen Anteilen an *n*-Heptan, Methanol und Trichlormethan wurde auch zur Trennung von höhermolekularen, polydispersen NPEO mit 12 bis 28 EO-Einheiten angewandt [261, 262, 361].

In allen anderen Fällen führt meistens die Gradientenelution zum Erfolg. Wobei bevorzugt Säulenpackungen aus unregelmäßig geformten 10- μm -Partikeln bei der Ethoxymeren-trennung für einen sehr weiten Molekulargewichtsbereich Verwendung finden. Für die routinemäßige Analytik von Umweltproben hat die Hypersil APS-Säule (z. B. 100 mm x 4 mm I.D.), die mit sphärischen 3- oder 5- μm -Partikeln gepackt ist, einen hohen Stellenwert erreicht, da sie bei sehr hoher Auflösung deutlich kürzere Trennzeiten ermöglicht als andere Säulen. Eine ganze Reihe von Lösemittelsystemen wurde für die Gradientenelution mit Aminosiloxan-Phasen eingesetzt. Weit verbreitet sind Gradientensysteme, die aus *n*-Hexan (A) und 2-Propanol in *n*-Hexan (B) [3, 251, 253, 257] oder 2-Propanol in *n*-Hexan (A) und Wasser in 2-Propanol (B) [4, 8, 45, 230, 231, 232, 250, 251, 253, 257, 330] bestehen. Ein Lösemittelsystem mit vergleichbaren Eigenschaften ist *n*-Hexan in 2-Propanol (A) und Wasser in Ethanol (B) [22]. Ebenfalls verwendet wurden Tetrahydrofuran (A) und Wasser / 2-Propanol in *n*-Hexan (B) [21] sowie Tetrahydrofuran in *n*-Hexan (A) und Wasser in 2-Propanol (B) [235, 386]. Ebenfalls zu erwähnen sind die Systeme *n*-Heptan (A) und *n*-Heptan in 2-Propanol (B) [187], als auch Methanol / Trichlormethan in *n*-Heptan (A) und Methanol / Trichlormethan (B) [261, 262, 361] sowie Acetonitril (A) und Wasser in Acetonitril (B) [362, 363]. Zum Einsatz kamen sowohl Methanol / Dichlormethan in Isooctan (A) und Methanol in Dichlormethan / Isooctan (B) [312] als auch Essigsäure in Methyl-*tert*-butylether (A) und Essigsäure / Methanol in Acetonitril (B) [174]. Ein sehr komplexes System, von dem berichtet wurde, ist Diethylether in *n*-Hexan (A) und *n*-Hexan / Diethylether / Ethanol / 2-Propanol / Wasser / Essigsäure in Dioxan (B) [22]. Je nach Verteilung der APEO-Oligomere in der zu untersuchenden Probe wird die Elution mit einem sehr niedrigen oder etwas höheren Anteil der polarerer Komponente B begonnen. Hiervon hängt ebenfalls ab, wie steil der Gradient sein muss. Ausreichend lange Äquilibrationszeiten der Säule zwischen den einzelnen Analysen sind von großer Bedeutung für eine gute Wiederholbarkeit der Retentionszeiten für die einzelnen Oligomere.

Wenn die instrumentelle Ausstattung es ermöglicht, kann anstelle von binären Gradientensystemen A-B mit jeweils binären bzw. ternären Lösemittelmischungen A und B

auch direkt ein ternäres Gradientensystem A-B-C eingesetzt werden, was ein Herstellen von Lösemittelmischungen überflüssig macht. Geeignet ist beispielsweise das System *n*-Hexan-2-Propanol-Wasser [94, 203]. Ein weiteres ternäres Lösemittelsystem, das für die isokratische Elution und für die Gradientenelution mit Aminosiloxanphasen eingesetzt wurde, besteht aus *n*-Heptan, Chloroform und Methanol [47].

Sowohl für isokratische als auch Gradientenelution variieren die Flussraten in Abhängigkeit von den verwendeten mobilen und stationären Phasen im Bereich von $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ bis $2,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. In Kopplung mit einem MS-Detektor können diese auch deutlich geringer sein.

Weniger weit verbreitet ist der Einsatz von Cyanophasen. Es wurde z. B. nach dem Ausblasen der NPEO mit Stickstoff in Ethylacetat aus verschiedenen Abwasserproben eine chemisch gebundene Cyanosiloxanphase (Waters Resolve CN, $10 \mu\text{m}$) zur Analyse der Essigsäureethylesterextrakte unter Verwendung eines UV-Detektors eingesetzt [319]. Mit isokratischer Elution mit Acetonitril / Wasser 95:5 (*v/v*) bei $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ließ sich eine Auftrennung von NP(EO)₄ bis NP(EO)₁₃ erreichen. Da die Oligomere mit $n_{EO} < 4$ gleichzeitig mit dem Lösemittel eluierten, wurde zu deren Bestimmung eine andere Säule verwendet.

Stationäre Phasen vom Cyanotyp sind zur Analyse von NP und NP(EO)₁ bis NP(EO)₁₇ geeignet, wenn Gradientenelution erfolgt. Im Anschluß an SPE fand sowohl bei der Bestimmung von NPEO in Abwässern und Flusswässern [216, 279] als auch bei der Analyse von APEO in Flugzeugenteisungsmitteln sowie Vereisungsinhibitoren [82] eine Cyanophase (Microsorb 100-5CN $250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$) Anwendung. Hier wurde in allen Fällen eine nichtlineare Gradientenelution mit 20 % (*v/v*) Tetrahydrofuran in *n*-Hexan (A) und 10 % (*v/v*) Wasser in 2-Propanol (B) unter Verwendung eines Fluoreszenzdetektors durchgeführt. Gradientenelution mit Lösemittelsystemen aus *n*-Hexan, Tetrahydrofuran, 2-Propanol und Wasser sind ebenfalls geeignet [117]. Ein weiteres, zur Analyse von NPEO mit $n_{EO} = 1$ bis 19 und von NP verwendetes Gradientensystem bestand aus Toluol (A) und $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ Natriumacetat in Toluol / Methanol / Wasser 10:88:2 (*v/v*) (B) [330, 331]. Als Detektor fand ein Elektrosprayionisations-Massenspektrometer (ESI-MS) Verwendung.

Zhou et al. [414] gelang die Auftrennung von NP(EO)₁ bis NP(EO)₁₈ unter Verwendung einer stationären Phase vom Dioltyp (LiChrosorb-Diol $5 \mu\text{m}$ $250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$ I.D.) mittels Gradientenelution mit 5 % Dichlormethan in *n*-Hexan (A) und *n*-Hexan / Dichlormethan / 2-Propanol 50:40:10 (*v/v*) (B). Es wurde mittels UV-Absorption bei 275 nm detektiert. Die Methode diente zur Analyse von Schaumbildnern und deren Adsorptionsverhalten an Apatit während der Erzflotation. Von einem ähnlichen Gradientensystem wurde unter Verwendung ebenfalls einer Diol-Phase bei Einsatz eines Verdampfungsstreulichtdetektors berichtet [18]. Wobei Methanol anstelle von 2-Propanol Verwendung fand. Auch isokrati-

sche Elution mit 2-Propanol / *n*-Heptan wurde durchgeführt [139].

Eine Auftrennung der APEO in die Ethoxymere lässt sich auch mit Kieselgel als stationäre Phase realisieren. Kudoh et al. [218] verwendeten für die Analyse von NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9$ und OPEO mit $\bar{n}_{EO} = 10$ eine 5 μm -LiChrosorb-Si-60-Säule (150 mm x 4 mm I.D.) und einen Fluoreszenzdetektor ($\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 310 \text{ nm}$). Es wurde mit einem linearen Gradienten von *n*-Hexan nach Ethanol / Tetrahydrofuran / Wasser 60:40:1 (*v/v*) innerhalb von 60 min eluiert. Eine 10 μm -LiChrosorb-Si-60-Säule (250 mm x 4,6 mm I.D.) wurde zur isokratischen und zur Gradientenelution mit *n*-Heptan, Methanol und Trichlormethan eingesetzt [261, 262, 263, 361]. Die besten Trennleistungen für NPEO mit einem weiten Oligomerenbereich soll mit diesem Lösemittelsystem mittels Gradientenelution erreicht werden, wenn eine Kieselgel- und eine Aminosäule in Serie verwendet werden [261]. Werden polarere mobile Phasen wie Acetonitril / Wasser für die Trennung von APEO oder AEO auf Kieselgel verwendet, beruht der Trennmechanismus vermutlich auf Adsorption [202]. Ibrahim und Wheals [181] führen den Retentionsmechanismus primär auf Beteiligung von H-Brückenbindungen der Silanolgruppen zurück. Hierfür spricht auch die pH-Abhängigkeit der Retentionszeiten der einzelnen APEO-Oligomere [181]. Optimale Trennleistung für die Gradientenelution mit Wasser / Acetonitril (4:1 (*v/v*) nach 1:1 (*v/v*) in 12 min) wird durch Puffern mit Phosphat auf pH 3 erreicht [180, 181]. Es wurde beispielsweise auch zur Ethoxymereentrennung von polydispersen NPEO und polydispersen linearen AEO mit Acetonitril / Wasser zusätzlich zum Lösemittelgradienten auch ein Flussgradient angelegt [202]. Außerdem wurde ein Hybrid aus einer Kieselgel-Säule und einer C18-Vorsäule verwendet. Ebenfalls einen Hybrid aus einer Kieselgel-Säule und einer C18-Vorsäule mit Acetonitril / Wasser verwendeten Shao et al. [332].

Von Forgas und Cserhati [136] fand eine systematische Untersuchung von Aluminiumoxid als stationären Phase statt. Es wurden für die isokratische Elution verschiedene binäre Lösemittelsystem zur Oligomerentrennung von polydispersen NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 4$ getestet. Von den untersuchten Systemen *n*-Hexan / Dichlormethan, *n*-Hexan / Dioxan, *n*-Hexan / THF, *n*-Hexan / Trichlormethan und *n*-Hexan / Ethylacetat wurde die beste Trennung mittels *n*-Hexan / Dichlormethan erreicht. Für alle Lösemittelsysteme und jede Fraktion wurden Kapazitätsfaktoren, Anzahl der theoretische Trennstufen, Auflösungen und Asymmetriefaktoren ermittelt.

3.2.2 Flüssigkeitschromatographie mit Umkehrphasen

Das Retentionsverhalten der APEO bei der RPLC hängt fast ausschließlich vom Alkylsubstituenten am aromatischen Ring ab, wenn unter typischen RP-Bedingungen eluiert wird. Die Retardierung ist um so größer, je länger die Alkylkette und je geringer deren Verzweigungsgrad ist. Für die meisten RPLC-Anwendungen gilt, dass unabhängig von

ihrem Ethoxylierungsgrad alle NPEO als ein Peak im Chromatogramm erscheinen und zeitlich getrennt von den NPEO alle OPEO zusammen eluieren. OP eluiert im Allgemeinen mit der OPEO-Fraktion zuerst, NP coeluiert mit den NPEO an zweiter Stelle, während 4-*n*-NP und 4-*n*-NPEO gemeinsam die dritte Fraktion bilden. Dies ermöglicht den Einsatz von 4-*n*-NP und 4-*n*-NPEO als interne Standards [127].

Die für diesen Zweck am häufigsten verwendeten stationären Phasen sind C8 und C18, die mit Partikelgrößen von üblicherweise 3 μm bis 10 μm in Säulen von 100 mm –250 mm x 2,0 mm –4,6 mm I.D. eingesetzt werden. Eine zufriedenstellende Trennung zwischen NPEO und OPEO ist in den meisten Fällen bereits mittels isokratischer Elution zu erreichen. Diese kann auf C8 oder C18 mit 10 % bis 25 % Wasser in Methanol erreicht werden [3, 4, 22, 94, 127, 129, 319, 323, 413]. Für C8 kann auch 4 % Acetonitril und 16 % Wasser in Methanol [67] sowie für C18 3 % Wasser und 14 % Tetrahydrofuran in *n*-Hexan [414] oder Acetonitril / Wasser 85:15 (*v/v*) [340] Verwendung finden. Je nach Methode variieren die Flussraten zwischen 0,5 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und 1,5 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$. In Kopplung mit einem MS-Detektor können diese auch deutlich geringer sein, z. B. 0,2 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ [127, 129].

Gradientenelution mit Acetonitril (**A**) und Wasser (**B**) von 50 % **A** nach 100 % **A** in 10 min gefolgt von 20 min mit 100 % **A** wurde zur Bestimmung von NPEO, Nonylphenol und Octylphenol in wässrigen Proben wie z. B. Abwasser nach SPE eingesetzt [346, 347]. Es wurde eine 5 μm -Prodigy-C18-Säule (250 mm x 4,6 mm I.D.) von Phenomenex und ein Fluoreszenzdetektor verwendet. Sollen neben den nichtionischen Tensiden NPEO oder OPEO ebenfalls ionische Tenside wie ABS oder LAS mittels RPLC bestimmt werden, kann der Zusatz von Modifiern zur mobilen Phase bei der Gradientenelution notwendig sein. Hier werden entweder Ionenpaarreagenzien oder Ionensuppressoren der mobilen Phase zugesetzt, da sonst alle geladenen Verbindungen gemeinsam mit dem Totvolumen eluiert werden [255].

Der Zusatz von Ionenpaarreagenzien wie Tetramethylammoniumbromid zur mobilen Phase ermöglicht neben der Bestimmung von OPEO und NPEO auch die Bestimmung von ABS (Decyl bis Tetradecyl) unter Verwendung einer C8-Säule [323]. Je nach Zusammensetzung der Probe kann isokratische oder Gradientenelution mit unterschiedlichen Anteilen Wasser in Methanol erfolgen.

Zur Analyse von NPEO und LAS sowie den Umweltmetaboliten NPEC und Sulfo-phenylcarboxylat in geklärten und ungeklärten Abwässern wurde ebenfalls RPLC unter Modifikation der mobilen Phase angewandt [252, 258]. Zur Gradientenelution mit Methanol und Wasser als auch Acetonitril und Wasser diente eine C18-Phase und es wurde der mobilen Phase Tetrabutylammoniumdihydrogenphosphat, Natriumperchlorat oder Trifluoressigsäure zugesetzt [252].

Für die Analyse von NPEO und OPEO sowie LAS mit unterschiedlichen Alkylsubstitu-

enten hat sich auch eine konvexe Gradientenelution mit Elutionsmitteln aus 2-Propanol, Acetonitril und Wasser unter Zusatz von Natriumperchlorat für C8-Phasen bewährt [251, 253, 257]. Die Verwendung von C18 bewirkt längere Analysenzeiten aber auch eine wesentlich bessere Auflösung der unterschiedlichen LAS-Isomere [257]. Zur simultanen Bestimmung von NPEO, NPEC und Nonylphenol wurde ebenfalls eine Gradientenelution mit Acetonitril / Wasser unter Zusatz von Natriumperchlorat auf C18 durchgeführt [306].

Werden Trimethylsiloxanphasen (C1) verwendet, eluieren je nach mobiler Phase verschiedene APEO-Ethoxymere nicht als ein einziger Peak. Wang und Fingas [398] verwendeten solche stationären Phasen für die Trennung von OPEO-Ethoxymere mit Ethoxylierungsgraden von $n_{EO} = 1$ bis 40. In Abhängigkeit von der Molekulargewichtsverteilung der untersuchten APEO-Tenside kann eine mehr oder weniger gute Auflösung zwischen den einzelnen Ethoxymere gelingen, wenn isokratisch mit einer Mischung aus einer wässrigen Ammoniumacetatlösung und aus 50 bis 62 % Methanol bei Flussraten von $0,7 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ bis $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ eluiert wird [325, 398]. C1-Phasen dienen auch zur Trennung von APEO, LAS und AEO bei isokratischer Elution mit Acetonitril / Wasser 65:35 (*v/v*) [69]. Mit derselben mobilen Phase unter Zusatz von $0,065 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Ammoniumacetat wurden APEO und LAS getrennt [325]. Willetts et al. [404] verwendeten ebenfalls C1-Phasen zur simultanen Trennung von APEO-Ethoxymere und LAS-Homologen.

Bei der Untersuchung des Elutionsverhaltens von APEO mit den mobilen Phasen Methanol / Wasser, Acetonitril / Wasser und Tetrahydrofuran / Wasser kamen Takasu et al. [369] zu dem Ergebnis, dass unter gewissen Bedingungen auch mit C18-Phasen eine Auftrennung der APEO in die Ethoxymere möglich ist. Mit Methanol / Wasser ist nicht nur eine Trennung zwischen NPEO und OPEO möglich, sondern auch zwischen den einzelnen Ethoxymere, wenn der Methanolanteil geringer als 70 % ist. Ein solches Verhalten zeigt Acetonitril / Wasser nicht. Auch mit geringen Anteilen an Acetonitril gelingt lediglich eine Auftrennung zwischen NPEO und OPEO, jedoch keine Auflösung der einzelnen Ethoxymere. Das höchste Potential zeigt jedoch THF / Wasser, mit dem eine Basislinienauflösung der einzelnen Ethoxymere möglich ist. Bei NPEO zeigt sich sogar eine gewisse Isomerenauflösung. Je nach Breite der Ethoxymereverteilung kann isokratisch mit 50 % bis 35 % THF in Wasser eluiert werden. Da bei sehr breiten Verteilungen es zu einer Überlagerung der NPEO- und OPEO-Fraktionen kommen kann, kann zunächst eine Trennung in eine NPEO- und eine OPEO-Fraktion, z. B. mit Acetonitril / Wasser, sinnvoll sein, bevor eine Ethoxymereentrennung erfolgt. Takasu et al. [369] führen den Trennmechanismus im wesentlichen auf hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den gelösten APEO und dem Adsorbens zurück, so dass mit steigendem Ethoxylierungsgrad der hydrophile Molekülteil gegenüber dem hydrophoben Teil an Bedeutung gewinnt und damit APEO mit Anwachsen der Polyoxyethylengruppe früher eluiert wird. Damit zeigt sich ein zur NPLC

entgegengesetztes Retentionsverhalten. Anwendung fand diese Methode bei der Analyse von Abwasserproben nach SPE und unter Verwendung eines Fluoreszenzdetektors [369].

3.2.3 Weitere flüssigkeitschromatographische Methoden

Die Gelfiltrationschromatographie (GFC) ist eine Methode, die in Kopplung mit einem Elektrosprayionisations-Massenspektrometer (ESI-MS) gegenüber der NPLC-ESI-MS insofern Vorteile aufweist, dass sie sich durch eine entgegengesetzte Elutionsreihenfolge der APEO auszeichnet. D. h. die Ethoxymere werden mit abnehmender Anzahl an Oxyethyleinheiten später eluiert. Damit lassen sich die bei der NPLC aufgrund der frühen Elution der niederen Ethoxymere auftretenden Störungen, die durch ebenfalls früh eluierende Matrixbestandteile verursacht werden, vermeiden.

Bei der Analyse von NP(EO)₂ bis NP(EO)₆ in synthetischen und Umweltwasserproben mittels GFC-ESI-MS kam das 5- μ m-Polyvinylalkoholgel Shodex MSpack GF-310 2D (150 mm x 2,1 mm I.D.) als stationäre Phase zum Einsatz [371]. Dabei wurde mit einer Flussrate von 0,1 ml · min⁻¹ und einem linearen Gradienten von 10 % Acetonitril (**A**) und 90 % 30 mmol · l⁻¹ Ammoniumacetat in Wasser (**B**) nach 55 % **A** und 45 % **B** in 30 min eluiert. Die Auflösung zwischen den einzelnen Ethoxymeren entspricht aber nicht der mit NPLC erreichbaren. Größenausschlusschromatographie (SEC) zur Bestimmung der Ethoxymerenverteilung von polydispersen NPEO mittels isokratischer Elution mit THF war durch Kopplung zweier Säulen mit unterschiedlichen Porengrößenverteilungen für einen weiten Molekulargewichtsbereich anwendbar [410]. Für kleinere Molekulargewichte war die Auflösung hoch genug, um zwischen Ethoxymeren mit einer Oxyethyleinheit Unterschied differenzieren zu können.

Eine stationäre Phase, die zu einer einzigartigen Selektivität und hohen Auflösung isomerer und eng verwandter Verbindungen führt, ist poröser graphitisierter Kohlenstoff (PGC), der sich durch eine flache Oberflächenstruktur auszeichnet. Retention auf PGC-Phasen findet hauptsächlich durch einen Adsorptionsmechanismus statt, der im wesentlichen auf hydrophoben Wechselwirkungen beruht. Gundersen [160] gelang mit einer PGC-Phase (Hypercarb) eine Auftrennung eines technischen Nonylphenolgemisches in verschiedene Isomere. Unter Verwendung eines Fluoreszenzdetektors konnte sie auch Standardlösungen verschiedener NPEO mit Hilfe von Gradientenelution mit Acetonitril und 1 % (v/v) Essigsäure in Wasser in Abhängigkeit von der Anzahl an Oxyethyleinheiten und vom Verzweigungsgrad des Nonylrestes trennen. Aufgrund der hohen Zahl unterschiedlicher, detektierbarer Peaks ist eine Identifizierung der einzelnen Komponenten nur sehr schwer möglich, so dass diese Methode für eine routinemäßige Bestimmung von NPEO nur geeignet ist, wenn massenspektrometrische Detektion erfolgt. Daher verwendeten Yamagishi et al [406,407] bei der Bestimmung von APEO mit Hilfe einer PGC-Phase neben einem UV-

Detektor auch einen MS-Detektor mit chemischer Ionisation bei Atmosphärendruck. Auch MS mit Elektrosprayionisation [407] und Tandemmassenspektrometrie [406] kamen zum Einsatz. Eine geeignete mobile Phase zur isokratischen Elution ist Ethanol [406]. Tributylphenolethoxylate wurden mit verschiedenen Methanol / Wasser-Systemen auch auf einer PGC-Säule entsprechend ihrer Oxyethyleneinheiten aufgetrennt [280]. Eine Zunahme der Retentionszeiten wurde für steigende Ethoxylierungsgrade und sinkende Methanolkonzentrationen beobachtet.

Eine sehr spezielle stationäre Phase, die sowohl eine Trennung der APEO in die verschiedenen Oligomere erlaubt, als auch einen vom Alkylrest der APEO abhängigen Trennmechanismus aufweist, wurde von Kamiyuki et al. [198] zur Analyse der beiden OPEO-Tenside Triton X-100 und X-405 verwendet. Es wurde als stationäre Phase Kieselgel, das mit verzweigtem Polyfluoralkylchlorsilan chemisch modifiziert wurde, verwendet. Die Auftrennung des OPEO-Tensids mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 9,5 (Triton X-100) auf diesem verzweigtem Polyfluoralkylsiloxan wurde durch isokratische Elution mit Methanol / Wasser 1:1 (*v/v*) erreicht, die Auftrennung des polydispersen OPEO mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 40 (Triton X-405) durch lineare Gradientenelution mit Methanol / Wasser (50:50 nach 55:45 in 400 *min*). Mit Hilfe von UV- und massenspektrometrischer Detektion konnte gezeigt werden, dass neben den 4-*tert*-Octylphenolethoxylaten auch 2-*tert*-Octylphenolethoxylate und vermutlich Butylphenolethoxylate in Triton X-100 enthalten sind.

3.2.4 Detektoren für die Flüssigkeitschromatographie

3.2.4.1 UV-Absorptions- und Fluoreszenzdetektoren

Sowohl für die NPLC als auch die RPLC sind zahlreiche Beispiele bekannt, bei denen UV-Detektoren (UVD) oder Fluoreszenzdetektoren (FLD) zur Quantifizierung von APEO verwendet wurden. Da APEO mit dem aromatischen Ring eine geeignete chromophore Gruppe tragen, sind UV-Detektoren sehr gut zur Bestimmung von APEO geeignet. UV-Detektion im Absorptionsbereich der p-Bande bei 220 *nm* bis 230 *nm* [45, 98, 139, 187, 202, 237, 251, 253, 306, 319, 323, 330, 398] erfolgte ebenso wie im Bereich der α -Bande bei 270 *nm* bis 280 *nm* [3, 4, 21, 22, 136, 143, 198, 251, 253, 261, 262, 263, 267, 283, 312, 340, 362, 363, 386, 406, 407, 413, 414]. In den meisten Untersuchungen mit UV-Detektion wurden dabei variable Wellenlängendetektoren (VWD) eingesetzt, gelegentlich auch Diodenarraydetektoren (DAD) [187, 237, 262, 290, 306]. Die Verwendung eines DAD hat den Vorteil, dass für jeden Zeitpunkt Absorptionsspektren aufgenommen werden können und somit dreidimensionale Chromatogramme erhalten werden können. Dies erleichtert die Identifizierung der aufgetrennten Komponenten.

Zhou et al. [414], die eine Diol-Säule und UV-Detektion bei 275 nm zur Bestimmung von NPEO in industriellen Mischungen benutzt haben, konnten für individuelle NPEO absolute Nachweisgrenzen von 51 ng für NP(EO)₂ bis zu 132 ng für NP(EO)₁₅ erreichen, während Ahel und Giger [3] für die Analyse von geklärten und ungeklärten Abwässern mittels NPLC bei 277 nm absolute Nachweisgrenzen von 1 µg für NP, NP(EO)₁ und NP(EO)₂ ermittelt haben. Damit konnten für diese Verbindungen Nachweisgrenzen von 0,5 µg · l⁻¹ für die Extraktion von 2-l-Wasserproben mittels Wasserdampfdestillation mit kontinuierlicher Lösemittelextraktion erreicht werden. Die Nachweisgrenzen liegen bei der NPLC-UVD in Abhängigkeit von der Extraktionsmethode für Wasserproben generell in der Größenordnung von 0,5 µg · l⁻¹ bis 5 µg · l⁻¹ für einzelne NPEO [301]. UV-Detektion im Bereich der p-Bande ist empfindlicher. So wurde für die SPME/NPLC bei 220 nm von mittleren absoluten Nachweisgrenzen von 6,3 ng für einzelne OPEO-Ethoxymere berichtet [45].

Aufgrund der deutlich höheren Empfindlichkeit und der größeren Selektivität sind FLD noch besser zur Bestimmung von APEO geeignet als der Einsatz eines UVD. So lassen sich für die Fluoreszenzdetektion bei einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{ex} = 230 \text{ nm}$ und einer Emissionswellenlänge von $\lambda_{em} = 302 \text{ nm}$ bei der NPLC für einzelne APEO-Ethoxymere absolute Nachweisgrenzen von 0,2 ng erreichen [174]. Es wurde auch von Nachweisgrenzen für ein einzelnes Ethoxymer einer polydispersen OPEO-Mischung von 0,0025 ng bei $\lambda_{ex} = 220 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 302 \text{ nm}$ berichtet [325]. Bezogen auf die Summe aller NPEO wurden für die NPLC bei $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 310 \text{ nm}$ absolute Nachweisgrenzen von 50 ng ermittelt [218]. Mit der RPLC wurden Nachweisgrenzen von 0,6 ng für NPEO und 0,2 ng für OP bei $\lambda_{ex} = 225 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 301 \text{ nm}$ [413] sowie 0,5 ng für OPEO bei $\lambda_{ex} = 230 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 310 \text{ nm}$ [23] realisiert. FLD können je nach Anregungs- und Emissionswellenlänge um das 100- bis 10000-fache empfindlicher sein als UVD. Daher wurden gerade für die Spurenanalytik von APEO FLD sehr häufig verwendet. Beim Einsatz der RPLC wurden APEO bei Anregungswellenlängen von 220 nm bis 230 nm und Emissionswellenlänge von 290 nm bis 310 nm bestimmt [23, 69, 94, 107, 215, 244, 251, 252, 253, 255, 257, 325, 346, 347, 369, 413], bei der NPLC wurden Anregungswellenlängen von 202 nm, 225 nm bis 233 nm oder 277 nm bis 280 nm sowie Emissionswellenlänge von 290 nm bis 310 nm verwendet [5, 6, 8, 14, 67, 82, 94, 160, 164, 174, 180, 181, 202, 203, 216, 218, 230, 231, 232, 250, 253, 257, 279, 330].

3.2.4.2 Massenspektrometrische Detektoren

Zur Kopplung von Massenspektrometern (MS) mit Flüssigkeitschromatographen bedient man sich häufig der sogenannten Sprayverfahren. Es sind für die Analyse von APEO vor allem die Elektrosprayionisation (ESI) und die chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI) zu nennen [292, 299]. Weniger Bedeutung kommen heutzutage dem Thermospray- und dem Teilchenstrahl-Interface zu. Die LC-MS-Kopplung hat gegenüber allen anderen

Detektoren den eindeutigen Vorteil einer deutlich höheren Selektivität, so dass bei der Analyse von APEO gleichzeitig eine Differenzierung zwischen NPEO und OPEO einerseits sowie zwischen den verschiedenen Ethoxymere mit demselben Alkylgruppe andererseits möglich ist. So kann beispielsweise das Massenspektrometer nach einer Auftrennung der APEO in NPEO und OPEO mittels RPLC dazu dienen, die verschiedenen individuellen NPEO- bzw. OPEO-Oligomere aufzulösen. Die Analyse der höheren Ethoxymere mit Thermospray- oder anderen LC-MS-Methoden ist jedoch im Hinblick auf die Molmassenabhängigkeit des MS-Responses und des Ionisationsprozesses problematisch [320].

Aufgrund der milden Ionisationsprozesse zeigen Spektren der Thermospray-MS kaum Fragmentationen, was als eine der größten Limitierungen dieser Technik angesehen werden kann, da nur geringe strukturelle Informationen erhalten werden [57, 104, 292].

LC-MS mit Teilchenstrahl-Interface ist dahingehend limitiert, dass sie bei der Analyse von APEO nur eine unzureichende Empfindlichkeit zeigt [57, 104, 292]. Außerdem ist sie nicht für schwerflüchtige Verbindungen geeignet [104]. Andererseits bietet sie den Vorteil, dass sie in der Lage ist, klassische Elektronenstoßionisationsspektren zu liefern, da die Ionenquelle dieselbe ist wie bei vielen GC-MS-Anwendungen [104]. Außerdem können mit diesem Interface Lösemittel, die für die RPLC üblich sind, bis zu Flussraten von $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ gehandhabt werden, flüchtige Puffer eingeschlossen [104]. So wurde Teilchenstrahl-LC-MS beispielsweise zur Bestimmung von APEO mit $n_{EO} = 3$ bis $n_{EO} = 8$ und von APEC in Trinkwasser eingesetzt [77]. Es fand Gradientenelution mit Methanol und 0,01 % (*w/v*) Ammoniumacetat in Wasser statt. Der Zusatz von Ammoniumacetat zur mobilen Phase soll bei solchen Anwendungen zwei Funktionen erfüllen. Ammoniumacetat dient zum einen als chromatographisches Ionenpaarreagenz für anionische Spezies und zum anderen als flüchtiger Elektrolyt bei der LC-MS-Detektion.

APEO können bei der LC-MS unter positiven Ionisationsbedingungen sowohl mittels ESI-MS als auch APCI-MS detektiert werden [292, 299]. Gelangen mehrere APEO-Oligomere zeitgleich in den MS-Detektor, wie dies z. B. bei der RPLC der Fall ist, zeigen die Massenspektren die für Ethoxylate typischen Muster, die aus Signalen mit einer gleichmäßigen Massendifferenz von 44 amu bestehen, die einer Oxyethyleneinheit entspricht [127, 290, 292, 299, 330]. Die Verwendung von Ionisationsquellen, die bei Atmosphärendruck arbeiten, erlauben eine milde Ionisation der Analyten und können bei entsprechender Konfiguration für die APCI- oder ESI-MS [56, 57, 59, 237, 290, 292, 293, 298, 300, 302, 303, 299, 330, 331, 332, 415] bzw. APCI- oder ESI-MS-MS [237, 297, 299] genutzt werden. Werden normale HPLC-Systeme verwendet, können die üblichen Flussraten zu hoch sein und es findet ein Split Verwendung. Shang et al. [330] haben beispielsweise bei der Kopplung der NPLC mit einem ESI-MS den Fluss von $0,7 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ mit Hilfe eines Splits auf $20 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ reduziert.

Werden ein ESI-Interface und aprotische Lösemittel wie etwa Acetonitril verwendet, so sind im positiven Ionisationsmodus ausschließlich Na-Adduktionen $[M + Na]^+$ zu beobachten [292, 298]. Ursächlich hierfür sind die große Affinität von NPEO und OPEO zu Alkalimetallionen aufgrund von Komplexbildung und die Tatsache, dass Natrium in Lösemitteln und Chemikalien sowie an Glas- und Metalloberflächen allgegenwärtig ist [67, 86, 277, 292]. Natriumaddukte sind relativ stabil, so dass generell keine weitere, strukturell signifikante Fragmentierung im Massenspektrum erhalten wird [292]. Wird ein protisches Lösemittel wie z. B. Methanol oder Wasser zur Elution verwendet, lassen sich auch intakte Moleküle $[M + H]^+$ und andere Addukte wie beispielsweise $[M + K]^+$, $[M + NH_4]^+$ und $[M + H_2O]^+$ sowie Cluster-Ionen beobachten [292, 330]. Aber auch hier überwiegen Ionen des Typs $[M + Na]^+$ [67, 292]. Sogar wenn H^+ -Ionen z. B. durch Zusatz von Trifluoressigsäure der mobilen Phase zugefügt werden, überwiegen $[M + Na]^+$ -Ionen eindeutig [83]. Beispielsweise waren bei der RPLC bei einer isokratischen Elution mit Methanol, Acetonitril und Wasser 80:4:16 (v/v) in den ESI-Massenspektren für alle NP(EO)_{5–13} neben dem Basision $[M + Na]^+$ auch $[M + NH_4]^+$ und $[M + H]^+$ zu beobachten [67]. Natrium- und Protonadduktionen dienten Zhu und Shi [415] bei der C18-RPLC mit Methanol / Wasser zur Identifizierung von Alkylphenol-, Alkohol- und Amidethoxylaten mittels ESI-MS. Wenn die RPLC mit einem ESI-MS-Detektor gekoppelt wird, können im positiven Ionisationsmodus neben den APEO auch AEO anhand ihrer Ionen $[M + Na]^+$ identifiziert werden, während im negativen Ionisationsmodus für Alkylphenole pseudomolekulare $[M - H]^-$ -Ionen charakteristisch sind [68, 127, 330]. Nach entsprechender Extraktion wurden für Abwässer (SPE) und Klärschlämme (Soxhlet-Extraktion) Nachweisgrenzen von $0,1 \mu g \cdot l^{-1}$ bzw. $10 ng \cdot g^{-1}$ erreicht [68]. Auch wenn in der Abwesenheit von Elektrolyten Natriumaddukte überwiegen, empfehlen einige Arbeitsgruppen die Ergänzung der Probenextrakte mit Natriumionen, um eine unzureichende Ionisationseffizienz zu vermeiden [127, 330]. Es empfiehlt sich der Zusatz von Natriumacetat sowohl für die NPLC mit dem Lösemittelsystem Toluol / Methanol / Wasser [330] als auch für die RPLC mit mobilen Phasen aus Methanol / Wasser [127], um eine Signalunterdrückung der geringer konzentrierten APEO-Spezies zu verhindern. Um die Empfindlichkeit des ESI-MS zu erhöhen, kann daher auch dem Eluentstrom nach der Trennsäule Natriumacetat zugesetzt werden [330]. Insgesamt kann analog zu den AEO für die APEO ein Ansteigen der Signalstärke für $[M + Na]^+$ -Ionen mit steigendem Ethoxyierungsgrad bis ca. $n_{EO} = 6$ beobachtet werden [83, 127]. Die GFC ist ebenfalls zur Kopplung mit ESI-MS geeignet [128, 371]. In einer Anwendung war der mobilen Phase (Gradient aus Acetonitril und Wasser) Ammoniumacetat zugesetzt worden, so dass alle NP(EO)_n-Ethoxymere mit $n_{EO} = 2$ bis $n_{EO} = 6$ anhand ihres $[M + NH_4]^+$ -Ions detektiert werden konnten [371]. Die Nachweisgrenzen lagen zwischen $160 ng \cdot l^{-1}$ für NP(EO)₄ und $240 ng \cdot l^{-1}$ für NP(EO)₂. Die Detektion von APEO im positiven Ionisationsmodus anhand ihrer Ammoniumadduktionen wurde auch bei der

RPLC-ESI-MS von OPEO und NPEO [239], APEO und AEO [78] und der RPLC-ESI-MS oder RPLC-ESI-MS-MS von NPEO, NP und NPEC [178,194,195] sowie NPEO, AEO und LAS [237] durchgeführt. NPEC oder Nonylphenol [177,194,195] sowie LAS [237] wurden hier im negativen Ionisationsmodus anhand der $[M-H]^-$ -Ionen detektiert.

Wird eine APCI-Quelle im positiven Ionisationsmodus verwendet, offenbart ein typisches Spektrum eines polydispersen APEO ein charakteristisches Muster, dass aus einer Serie von Peaks mit gleichem Abstand besteht. Die Hauptserie besteht aus den $[M+H]^+$ -Ionen, die zweite für z. B. NPEO aus $[M-C_9H_{18}]^+$ -Ionen und die dritte aus den Adduktionen $[M+NH_4]^+$ [292]. Es können zusätzlich noch eine Reihe weiterer Adduktionen wie etwa $[M+Na]^+$ und $[M+K]^+$ gebildet werden. Das Auftreten von $[M+(H_2O)_n+H]^+$ -Clustern ist ebenso möglich. Ebenso können intensive $[M+H_2O]^+$ -Ionen charakteristisch sein [290]. Dies bedeutet für die APCI, dass die bei der positiven Ionisation von APEO-Molekülen gebildeten Ionen sich zwischen einer Reihe unterschiedlicher Addukt-Ionen verteilen, deren auftretenden Mengen in Abhängigkeit von der Konzentration an NH_4^+ , Na^+ und K^+ sehr unterschiedlich sein können. Scullion et al. [325] folgerten aus ihren APCI-MS-Spektren, dass neben den dominierenden $[M+Na]^+$ -Ionen und den schwächeren $[M+H]^+$ -Ionen auch die Natrium-Adduktionen $[M+2Na]^+$ und $[M+3Na]^+$ gebildet werden. Bei der Kopplung eines RPLC-Systems mit einem MS-Detektor über ein APCI-Interface kann die mobile Phase, die in der Regel aus Wasser, Acetonitril oder Methanol zusammengesetzt ist, mit Essigsäure angesäuert werden [56,57,59,290]. Die dadurch bevorzugt gebildeten $[M+H]^+$ -Ionen, die für NPEO ein relatives Molekulargewicht von $220 + n_{EO} \cdot 44$ aufweisen, können zur Identifikation und Quantifikation genutzt werden. Bei der chemischen Ionisation mittels APCI kann auch der mobilen Phase nach der Trennsäule eine wässrige Ammoniumacetatlösung zudosiert werden, um die Bildung von $[M+NH_4]^+$ zu begünstigen [39,237]. Die Vorteile einer MS-MS-Detektion bei Verwendung eines APCI-Interfaces wurden ebenfalls genutzt [39,237]. Bester et al. [39] haben bei der Bestimmung von NPEO und LAS nach SPE von 4 l Meerwasser mittels RPLC-APCI-MS-MS Nachweisgrenzen von $10\text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ für NPEO und $5\text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ für LAS erreicht. Die relativen Standardabweichungen lagen bei 6 % sowie 3 %. Für die RPLC-APCI-MS wurden dagegen bei der Analyse von Klärschlämmen für NPEO und AEO lediglich Nachweisgrenzen von $65\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ bis $90\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ erreicht [290].

Der Vergleich der Nachweisgrenzen für verschiedene Analyten zeigt deutlich, dass ESI gegenüber APCI eine bessere Empfindlichkeit und Spezifität für einen weiten Bereich unterschiedlicher Ethoxymere aufweist [298]. Es ließ sich feststellen, dass Monoethoxylate nicht detektiert werden können, wenn APCI angewendet wird, während Diethoxylate nur bei Konzentrationen nachgewiesen werden können, die oberhalb der für Umwelt- und Abwasserproben typischen Konzentrationen liegen. Für die APCI-MS nimmt der Detek-

torresponse dramatisch von $\text{NP}(\text{EO})_4$ nach $\text{NP}(\text{EO})_1$ ab [290]. Nachweisgrenzen bei der RPLC-ESI-MS können für APEO mit $n_{\text{EO}} = 1$ bis $n_{\text{EO}} = 3$ bei geeigneter Probenextraktion wässriger Proben $< 0,4 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ sein [127].

Ein außerordentlich leistungsstarkes Instrument, dass sehr hilfreich sein kann bei der Aufklärung von Prozessen, die bei der APEO-Metabolisierung ablaufen, ist die Tandemmassenspektrometrie (MS-MS). Mit Hilfe der MS-MS ist eine Strukturaufklärung unbekannter Metaboliten und Biointermediate möglich, wie sie beispielsweise während der Abwasserbehandlung [237,324], beim Chloren während der Trinkwasseraufbereitung [297], bei der Oxidation von NPEO durch Zytochrom-P450-Enzymen [177] oder beim aeroben Abbau von NPEO in Süßwasser [194] auftreten. Ferner ist die MS-MS-Detektion sehr nachweisstark. Bei der Analyse von Oberflächenwässern und Trinkwasser konnten mittels ESI-MS-MS Nachweisgrenzen für die Oligomere $\text{NP}(\text{EO})_1$ bis $\text{NP}(\text{EO})_{17}$ von $10 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $50 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ erreicht werden [178]. Die Identifikation von Verbindungen wird unter Verwendung eines MS-MS-Detektors erheblich erleichtert, da charakteristische Mutter- und Tochterionen durch Kollision mit einem Gas wie Argon erzeugt und getrennt voneinander mit Hilfe des zweiten MS-Detektors analysiert werden können [237,297].

Eines der Hauptprobleme bei der Analyse von APEO mittels ESI-MS ist die Unterdrückung der Analytsignale in Umwelt- und Abwasserproben [83,127,292,298,330]. Solche Proben enthalten normalerweise hohe Konzentrationen weiterer Verbindungen. Diese Matrixkomponenten konkurrieren mit den Analytionen um den Zugang zur Tröpfchenoberfläche beim Übergang in die Gasphase, was zu einer Reduzierung des relativen Anteils am Gesamtionenstrom führt. Dieser Matrixeffekt kann – wenn auch nicht vollständig – reduziert werden durch eine sorgfältiges Clean-up der Proben und eine LC-Trennung.

Auch MS-Detektion von APEO mittels Ionisierung durch Atombeschuss (FAB) ist möglich [198]. Für die Kopplung mit der HPLC ist ein spezielles Interface notwendig. Es besteht zum einen aus einer Einheit, mit der nach der Trennsäule der Eluent mit der Matrixlösung, z. B. einer 1 %-igen methanolischen Glycerinlösung, vermischt wird [198]. Der zweite Teil ist das Target, das aus einer Fritte besteht und auf dem sich der mit der Matrixlösung vermischte Eluent ausbreitet und zur Ionisation z. B. mit schnellen Xenonatomen beschossen wird [198]. Für OPEO werden bei der FAB-MS sowohl quasmolekulare Ionen $[\text{M} + \text{H}]^+$ als auch charakteristische Fragmentationen beobachtet [198]. Ein typisches Fragmention für OPEO ist $[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_9]^+$, das durch Abspaltung eines Pentylradikals entsteht [198]. Auch Fragmentierung der Polyoxyethylenkette findet statt, was an dem Auftreten der Ionen $[(\text{EO})_2 + \text{H}]^+$ (m/z 89) und $[(\text{EO})_3 + \text{H}]^+$ (m/z 133) zu beobachten ist [198]. Das Transportband-Interface war das erste LC-MS-Interface, dass bei der Analyse von APEO zum Einsatz kam. Levsen et al. [235] haben dieses Interface zur Kopplung mit der NPLC genutzt, um die Oligomerenverteilung in dem polydispersen

OPEO Triton X-100, dem polydispersen NPEO Arkopal N 060 und dem polydispersen Cetylethoxylat Brij 56 zu untersuchen und deren biologischen Abbau in Wasser zu verfolgen. Dabei wurde sowohl Elektronenstoßionisation (EI) als auch chemische Ionisation (CI) mit Isobutan als Reaktandgas durchgeführt. CI-Massenspektren werden von protonierten Molekülonen $[M + H]^+$ dominiert [235]. Zusätzlich werden häufig Fragmentationen für die Ethoxymere mit bis zu 6 Oxyethyleneinheiten beobachtet, die durch den Verlust von Nonen bei NPEO bzw. Octen bei OPEO charakterisiert sind. Für höhere Oligomere spielen solche Fragmentierungen keine Rolle. Hier werden stattdessen Fragmentationen mit m/z 291 für NPEO und m/z 277 für OPEO beobachtet, also $C_9H_{19}-C_6H_4-OCH_2CH_2-OCH_2CH_2^+$ bzw. $C_8H_{17}-C_6H_4-OCH_2CH_2-OCH_2CH_2^+$. Im EI-Massenspektrum ist das Molekülion M^+ deutlich zu sehen. Das Spektrum von NPEO zeigt aufgrund des Verlustes eines Hexylradikals ein intensives Fragmention $[M - C_6H_{13}]^+$ [235]. Es zeigt weiter Fragmentationen, die auf Abspaltung unterschiedlicher Alkylradikale zurückzuführen sind. Ebenfalls charakteristisch ist das Ion $[(CH_2CH_2O)_2 + H]^+$, das durch Spaltung der Polyoxyethylengruppe gebildet wird.

3.2.4.3 Weiter Detektoren

Detektoren, die nicht analytspezifisch sind, wie z. B. der refraktometrische Detektor (RID) oder der Verdampfungs-Streulichtdetektor (ELSD) spielen zur Detektion von APEO nahezu keine Rolle.

Der RID ist zum einen nicht sehr empfindlich und zum anderen für die Gradientenelution aufgrund des Basisliniendriffs ungeeignet. Ein RID konnte dennoch bei der Bestimmung der Oligomerenverteilung von NPEO mittels SEC verwendet werden, da isokratische Elution mit THF durchgeführt wurde und nur reine THF-Lösungen von $2\text{ mg} \cdot g^{-1}$ analysiert wurden [410].

Der ELSD ist demgegenüber wesentlich empfindlicher und für die Gradientenelution geeignet, hat jedoch die Nachteile, dass er eine starke Nichtlinearität des Detektorresponses aufweist und nichtflüchtige Verbindungen in der Matrix zu Störungen führen können [202]. Daher werden für den ELSD Kalibrierfunktionen zweiten Grades benutzt [69]. Der Einsatz des ELSD bietet sich an, wenn neben APEO auch Tenside ohne Chromophore, wie etwa AEO, bestimmt werden sollen [69, 117, 274]. Dann kann auf eine Derivatisierung der AEO verzichtet werden. Von einigen Anwendungen des ELSD zur Bestimmung von APEO wurde berichtet [18, 202]. Für die Gradientenelution mit Acetonitril / Wasser-Systemen auf Kieselgelphasen lagen die Nachweisgrenzen im hohen $\mu g \cdot l^{-1}$ -Bereich, was der Empfindlichkeit einer UV-Detektion entsprach [202].

3.3 Gaschromatographie von Alkylphenoethoxylaten

Die Bestimmung von APEO mit gaschromatographischen Methoden hat eine Beschränkung dadurch, dass mit ansteigendem Ethoxyierungsgrad ein starkes Absinken der Flüchtigkeit verbundenen ist. Wenn keine Derivatisierung durchgeführt wird, bleibt die Gaschromatographie (GC) in der Regel auf APEO mit bis zu 5 oder 6 Oxyethyleneinheiten limitiert [228, 391]. Da aber gerade in Umweltproben die aeroben und anaeroben APEO-Abbauprodukte, also Metaboliten wie AP(EO)₁ und AP(EO)₂, APEC oder NP und OP, von großem Interesse sind, ist die GC, vor allem aber die GC-MS, aufgrund ihres hohen Auflösungsvermögens ein sehr verbreitetes Instrument zur Analyse von Proben aus der aquatischen Umwelt. Mit ihr ist beispielsweise eine Identifikation unterschiedlicher Nonylphenolisomere möglich, was die Flüssigkeitschromatographie nicht gestattet.

3.3.1 Gaschromatographie ohne Derivatisierung

Beschränkt sich eine Analyse auf die niederen APEO-Oligomere, können solche GC-MS-Systeme eingesetzt werden, die sich für den Routinebetrieb bewährt haben, ohne dass eine Derivatisierung der APEO notwendig ist. Diese sind häufig mit Quadrupol-Massenspektrometern ausgestattet und arbeiten typischerweise mit Elektronenstoßionisation (EI) im positiven Modus bei Elektronenenergien von 70 eV. In der Regel wird die chromatographische Trennung mittels Fused-Silica-Kapillarsäulen mit stationären Phasen geringer Polarität und Helium als Trägergas durchgeführt. Solche Säulen enthalten üblicherweise als stationäre Phasen Methylpolysiloxane, die einen Phenylanteil von bis zu 5 % und einen Vinylanteil von bis zu 1 % aufweisen können. Als sehr verbreitete Beispiele lassen sich DB-5, OV-1 und SE-54 nennen [228]. Übliche Säulendimensionen sind 30 m x 0,25 mm I.D. bei einer Filmdicke von 0,25 µm. Findet keine Derivatisierung der Analyten statt, ist neben dem MS auch der Flammenionisationsdetektor (FID) zur Bestimmung von APEO und Alkylphenolen geeignet. GC-FID liefert zwar geringere strukturelle Informationen, hat jedoch den Vorteil, dass das Signal des FID näherungsweise nur von der Anzahl der Kohlenstoffatome abhängt. Das bedeutet, dass mit nahezu identischen Responsefaktoren für verschiedenen Isomere eine quantitative Ermittlung der Isomerenverteilung von NPEO und Nonylphenol in den untersuchten Proben und den verwendeten Standards möglich ist. Solche oder ähnliche System wurden zahlreich eingesetzt, vor allem zur Bestimmung der Alkylphenole, den wichtigsten APEO-Metaboliten, in Umweltproben, Abwasserproben und Proben aus Kläranlagen. Ohne eine vorherige Derivatisierung der Analyten durchzuführen, dienten sie nach geeigneter Probenvorbereitung zur Analyse von niederen NPEO und OPEO, von NP und OP sowie weiteren APEO-Metaboliten in Meer- oder Süßwasserproben [3, 42, 41, 88, 306, 353], in geklärten oder ungeklärten Ab-

wässern [3, 161, 242, 304, 324, 353, 360], in Fluss- oder Meeressedimenten [94, 161, 242], in Klärschlämmen [225], in Geweben von Weichtieren oder Fischen [130, 153, 200, 242, 345], in Luft- bzw. Aerosolproben [88] und bei der Aufklärung von photokatalytischen Zersetzungsprodukten von NPEO [336].

Eine Bestimmung von APEO mit bis zu 9 Oxyethyleneinheiten ist mittels GC-EI-MS z. B. unter Verwendung einer DB-5-Säule (30 m x 0,32 mm I.D., 0,25 μ m Filmdicke) möglich, wenn Temperaturprogramme mit Säulentemperaturen bis zu 320 °C durchgeführt werden [94]. Aufgrund der abnehmenden Flüchtigkeit der höheren APEO-Ethoxymere sinkt jedoch die Signalintensität mit steigendem Ethoxylierungsgrad ab. Hinzu kommt ein deutlicher Basisliniendrift im Chromatogramm des Totalionenstroms (TIC). Im Massenspektrum von APEO können bei der positiven EI die Molekülionen M^{+} sowohl beobachtet als auch nicht beobachtet werden, meistens sind sie von geringer Intensität [320]. Da die Benzylspaltung bei höheren 2- und 4-Alkylphenolen aber auch bei APEO überwiegt, werden intensive Fragmentionen $^{+}C(CH_3)_2-C_6H_4-(OCH_2CH_2)_nOH$ beobachtet, die durch Abspaltung eines Pentyl- oder Hexylradikals gebildet werden [94, 320]. Für OPEO und OP sind das $[M-71]^{+}$ -Ionen, bei NPEO und NP $[M-71]^{+}$ - und $[M-85]^{+}$ -Ionen [94, 111, 112, 320]. Weitere Ionen korrespondieren entweder mit der Fragmentierung der Alkylgruppe oder mit der Fragmentierung der Polyoxyethylenkette [94, 320]. Das EI-Massenspektrum ist daher auch vom Auftreten des $[CH_2CH_2OH]^{+}$ -Ions (m/z 45) dominiert [94]. Das wiederkehrende Masseninkrement von 44 entspricht dem Unterschied von einer Oxyethyleneinheit zwischen verschiedenen Oligomeren in Mischungen [94, 111, 112].

Neben EI kann auch chemische Ionisation (CI) von APEO bei der MS-Detektion eingesetzt werden. Ding und Tzing [111] haben CI neben EI verwendet, um mittels Ion-Trap-GC-MS Nonylphenol, NPEO mit $n_{EO} = 1$ bis $n_{EO} = 3$ und deren carboxylierten bzw. dicarboxylierten Metaboliten in Fluss- und Abwasser zu bestimmen. Die carboxylierten Spezies wurden zunächst in die Propylester überführt, während NPEO und NP nicht derivatisiert wurden. Es können zusätzlich auch LAS und deren Degradierungsprodukte untersucht werden, wenn diese in die Trifluoressigsäureester überführt werden [112]. CI-MS wurde mit den Reaktanden Methan und Aceton im Selected-Ejection-Chemical-Ionization-Modus durchgeführt, als auch Untersuchungen im CI-MS-MS-Modus gemacht wurden [111, 112]. Zur Quantifizierung und Identifizierung von NPEO und NP mittels EI-MS dienten die Ionen $[M-71]^{+}$ und $[M-85]^{+}$, während bei der CI-MS die quasimolekularen Ionen $[M+H]^{+}$ genutzt wurden [112]. Insgesamt bietet der zusätzliche Einsatz der CI-MS und CI-MS-MS neben der EI-MS vor allem bei der Identifizierung von NPEO-Metaboliten, die durch Carboxylierung der EO-Kette oder der Alkylkette gebildet wurden, deutliche Vorteile [109, 111, 112]. Quantifizierung erfolgt bevorzugt unter Single-Ion-Monitoring oder Multiple-Ion-Detection bei Verwendung von internen

Standards, die vor (Methodenstandard) oder nach (Instrumentstandard) der Extraktion der Probe zugefügt werden. Als Instrumentstandards wurden beispielsweise 2,4,6-Trimethylphenol [3, 355], 2,4,6-Tribromphenol [242], Chrysen-d12 [111], Naphthalin-d8 und 1-Phenyldodecan [88] verwendet. Als Methodenstandards dienten 4-Butylphenol [41], 4-*n*-Heptylphenol [88] und 4-*n*-NP. Isotopenmarkiertes NP wurde ebenfalls als interner Standard verwendet [304]. Die Verwendung von Large-Volume-Injection-Systemen erlaubt eine Erhöhung der Empfindlichkeit, da größere Probenvolumen injiziert werden können [111]. Hochtemperatur-GC ermöglicht auch die Analyse höherer APEO-Oligomere. Hierzu werden spezielle Hochtemperaturkapillarsäulen verwendet, die mit speziell stabilisierten, gebundenen Polysiloxanfilmen belegt sind und eine Säulenofentemperatur bis zu 400 °C erlauben [391]. Nachteilig kann jedoch die Zersetzung der höhermolekularen APEO sein. Mit Hilfe der Hochtemperatur-GC unter Verwendung eines FID wurden beispielsweise OPEO mit $\bar{n}_{EO} = 10$ [238] und NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 6$ [49] mit Temperaturprogrammen bis zu 400 °C analysiert.

3.3.2 Gaschromatographie mit Derivatisierung

Die Derivatisierung dient dazu, die Flüchtigkeit der APEO zu erhöhen. Dabei sollen die Moleküle intakt bleiben. Dies geschieht in der Regel durch Reaktion der polaren Hydroxy-Gruppe zu den Ethern oder zu den Estern. Silylierung stellt hierbei eine weit verbreitete Methode dar. Auch Hochtemperatur-GC derivatisierter APEO ist üblich, um Ethoxymere mit höherem Molekulargewicht bestimmen zu können.

Bei der Bestimmung von NP(EO)₁ in Abwässern und Flusswässern sowie Sedimenten und Muschelgeweben wurden durch Reaktion mit *N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) die Trimethylsilylether dargestellt [185]. Die Trennung von NPEO mit bis zu $n_{EO} = 16$ als Trimethylsilylether nach Derivatisierung mit BSTFA ist mit Temperaturprogrammen bis zu 390 °C möglich [192, 16]. Auf diese Weise wurde mit einer kurzen Kapillarsäule von 6 m die NPEO-Oligomerenverteilung in Prozess- und Abwässern aus der Wollbehandlung bestimmt [192]. Derivatisierung mit BSTFA zu den Trimethylsilyl-Ether wurde noch in weiteren Anwendungen genutzt [354]. Ebenfalls Trimethylsilyl-Ether können erhalten werden durch Derivatisierung mit *N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid [191, 365, 366]. Auch Derivatisierung mit Trimethylchlorsilan und Hexamethyldisilazan ist möglich [241, 313]. Mit Temperaturprogrammen bis zu 400 °C wurden z. B. entsprechend derivatisierte OPEO mit bis zu 10 Oxyethyleneinheiten auf OV-1 aufgetrennt [313]. Da mehr strukturelle Informationen erhalten werden können und da eine größere Empfindlichkeit erreichbar ist, wird häufig mit EI-MS detektiert. Die Trimethylsilyl-Ether der APEO zeigen bei der EI-MS analoge Fragmentierungen wie die underivatisierten Verbindungen [320]. Sehr häufig wird auch ein FID verwendet. Dieser Detektor dient aufgrund seiner Eigenschaft, für

verschiedene Isomere nahezu identische Responsefaktoren aufzuweisen, überwiegend dazu, die Isomerenverteilung von NPEO und Nonylphenol quantitativ zu ermitteln. Auch die Ermittlung der Oligomerenverteilung von NPEO mittels FID mit dem sogenannten „Effective Carbon Number Concept“ ist möglich [191, 192].

APEO lassen sich auch als Methylderivate mittels GC-MS analysieren. Díaz et al. [91] haben mittels Headspace-SPME-GC-MS NP, NP(EO)₁, NP(EO)₂ und NPEC nach einer In-Probe-Derivatisierung mit Dimethylsulfat / NaOH in Fluss- und Leitungswasser bestimmt. Dabei wurden NPEO in ihre Methylether und NPEC in ihre Methylester überführt. Quantifizierung erfolgte mit Hilfe der internen Standards 4-*n*-NP, 4-*n*-NP(EO)₁ und 4-*n*-Nonyloxybenzoesäure bei Nachweisgrenzen von $0,02 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für NP, $0,2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $0,4 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für NPEO und $0,3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $1,5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ für NPEC.

Cathum und Sabik [60] haben APEO mit $n_{EO} = 1$ bis $n_{EO} = 16$ zusammen mit den Abbauprodukten NP, OP und APEC in Oberflächenwässern, Abwässern und Muscheln mittels GC-MS bestimmt. Nach der Extraktion der Analyten wurden diese mit Pentafluorbenzylbromid derivatisiert und im Anschluß an ein chromatographisches Clean-up mit Hilfe der GC-MS analysiert. Die Methodennachweisgrenzen betrugen $1 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ für die untersuchten Wasserproben und $3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ für die Muschelproben. Als interner Standard diente Chrysen-d12. Die MS-Detektion von Pentafluorbenzylderivaten ist nicht nur mit positiver EI möglich, sondern auch mit negativer CI mit Methan als Reaktandgas [64, 394]. Zusätzlich ist eine empfindliche und selektive Detektion auch mit einem Elektroneneinfangdetektor möglich [64, 394]. Absolute Nachweisgrenzen wurden am Beispiel von NP ermittelt und betrugen für diesen Detektor 20 pg im Vergleich zu 10 pg für EI-MS bzw. 2 pg für negative CI-MS [64].

Nach Extraktion und HPLC-Clean-up diente auch Heptafluorbutansäureanhydrid zur Derivatisierung von APEO, die neben Alkylphenol und Bisphenol A in Flusswasser, Meerwasser und Sedimenten mittels GC-MS bestimmt wurden [165].

3.4 Überkritische Fluidchromatographie von Alkylphenolethoxylaten

Für die APEO-Trennung mittels überkritische Fluidchromatographie wurden sowohl gepackte als auch Kapillarsäulen verwendet. Für Kapillarsäulen sind Biphenyl / Methylpolysiloxane [150, 176, 196, 396, 397] üblich, für gepackte Säulen C18- [150, 268, 370], Cyano- [97] oder PS / DVB-Phasen [147]. Die Trennung der APEO erfolgt gemäß der Länge der Polyoxyethylenkette, wobei bei Kapillarsäulen für NPEO Feinstrukturen der Peaks sowohl in Abhängigkeit von der *o*- und *p*-Substitution am Phenylring als auch von der isomeren

Form des Nonylrestes zu beobachten sind [176, 396]. Sowohl mit UV-Detektoren als auch FID werden gute Resultate erreicht. In der Regel findet isotherme Elution mit überkritischem Kohlenstoffdioxid unter Verwendung von Druckprogrammen bei 100 °C bis 150 °C statt.

Sandra und David [313] haben beispielsweise OPEO mit bis zu 10 Oxyethyleneinheiten mit einer SE-54-Kapillarsäule und einem FID bestimmt. Eine Modifikation der CO₂-Phase mit Methanol oder 2-Propanol [150] wurde ebenso durchgeführt wie Gradientenelution mit CO₂ / Acetonitril [147]. Es wurden auch CO₂-freie mobile Phasen verwendet, wie z. B. Methanol [370] und Ethanol / *n*-Hexan 1:1 (*v/v*) [268].

Ferner wurde auch die Kombination gepackter Säulen mit unterschiedlichen stationären Phasen getestet [170]. Hierbei zeigte sich, dass die Kombination einer Diol- mit einer Cyanosäule optimale Ergebnisse liefert. Die Verwendung von gepackten Säulen bietet den Vorteil gegenüber von Kapillarsäulen, dass größere Probenmengen injiziert werden können und dass eluierte Fraktionen gesammelt werden können [170]. Gegenüber der HPLC werden bei gleicher Trennleistung wesentlich kürzere Retentionszeiten erreicht [170].

Der Einsatz von MS-Detektoren kann eine unvollständige Trennung ausgleichen. Beispielsweise wurde bei der Analyse eines NPEO-Tensids mit einem UV-Detektor lediglich eine Auflösung gemäß der Ethoxylatkettenlänge beobachtet, während mit Hilfe eines MS-Detektors deutlich wurde, dass jeder Peak auch Verunreinigungen von Heptylphenol-ethoxylaten mit derselben Ethoxymereverteilung enthielt [268].

3.5 Kapillarelektrophorese von Alkylphenoethoxylaten

Neutrale nicht-ionische Tenside wie APEO besitzen keine elektrophoretische Mobilität. Mittels Kapillargelelektrophorese können APEO auf Fused-Silica-Kapillarsäulen (75 μm x 50 cm), die mit Polyacrylamidgelen beschichtet sind, in ihre Ethoxymere getrennt werden, wenn sie zuvor durch Derivatisierung in anionische Spezies überführt wurden [31, 395]. In diesem Fall findet UV-Detektion bei z. B. 275 nm an der Anode statt und die Oligomere erreichen mit steigendem Molekulargewicht den Detektor später [395]. Für APEO mit sehr hohem Molekulargewicht können die Elutionszeiten sehr lang werden, wenn mit Phthalsäureanhydrid derivatisiert wird, da pro Molekül eine anionische Gruppe eingeführt wird [395]. Bessere Ergebnisse für höhere Oligomere lassen sich erzielen, wenn mit Benzol-1,2,4-tricarbonsäureanhydrid derivatisiert wird, da zwei anionische Gruppen pro Molekül eingeführt werden und somit eine schnellere Migration erreicht wird [31]. Eine Trennung zwischen APEO und Polyethylenglykolen ist möglich, da mit jedem Derivatisierungsmittel

für die Polyethylenglykole doppelt so viele anionische Gruppen eingeführt werden, so dass diese vor den APEO eluiert werden [31].

Mit Hilfe der Kapillarzonenoelektrophorese können mit Fused-Silica-Kapillarsäulen (50–75 μm x 50–60 cm) gute Trennleistungen für APEO ohne Derivatisierung erreicht werden, wenn Phosphat- oder Boratpuffer, die Natriumdodecylsulfat und einen hohen Anteil organischer Lösemittel (ca. 40 % Acetonitril) enthalten, verwendet werden [50, 166, 167, 393]. Dann findet UV-Detektion an der Kathode statt und die Retentionszeiten der Ethoxymere verkürzen sich mit steigendem Ethoxyierungsgrad. Um eine bessere Auflösung der höheren Ethoxymere zu erreichen, kann der Acetonitrilgehalt im Puffer bis auf 20 % abgesenkt werden [166, 167]. OPEO werden nicht so stark zurückgehalten wie NPEO, da sie weniger hydrophob sind als diese und daher weniger stark mit Natriumdodecylsulfat wechselwirken [167].

Während bei der Kapillargelelektrophorese und der Kapillarzonenoelektrophorese eine Mizellbildung negativen Einfluß auf die Elektropherogramme hat und daher unterbunden wird, wird die Neigung der APEO zur Mizellbildung bei der mizellaren elektrokinetischen Kapillarchromatographie genutzt. Es wurden zur Trennung von APEO auf Fused-Silica-Kapillarsäulen (50 μm x 48,5 cm) verschiedene Boratpuffer und Mizellsysteme eingesetzt [169]. Die Wirkung von verschiedenen Salzen der Gallensäuren, von Natriumdodecylsulfat und von organischen Lösemitteln wurden näher untersucht. Maximale Auflösung von APEO wurde mit 80 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ Borat (pH 8,5), 50 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ Natriumdeoxycholat und 10 % 1-Propanol oder Acetonitril erreicht. Mittels UV-Detektion bei 200 nm wurden Nachweisgrenzen für den NPEO-Gesamtgehalt von 28 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ bei der Bestimmung von APEO in Reinigungsprodukten erreicht.

3.6 Massenspektrometrie von Alkylphenoethoxylaten

Neben der bereits in **Abs. 3.2** und in **Abs. 3.3** erwähnten Kopplung der Massenspektrometrie mit chromatographischen Methoden bietet auch die Off-Line-Massenspektrometrie die Möglichkeit der Charakterisierung von APEO, nachdem diese mit Hilfe einer geeigneten Probenextraktion isoliert wurden.

Ein Verfahren zur Off-line-Analyse von APEO besteht in der matrixunterstützten Laser-Desorption/Ionisation-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI-ToF-MS). Bei dieser Methode wird die Probe zusammen mit einer im Wellenlängenbereich des Lasers absorbierenden Matrix auf ein Metalltarget gebracht und mit einem gepulsten UV-Laser beschossen. Als Matrix für die Untersuchung verschiedener NPEO haben Ayorinde et al. [26, 27, 28]

α -Cyano-4-hydroxyzimtsäure verwendet. Die untersuchten NPEO umfassten dabei einen sehr weiten Molekulargewichtsbereich. Es wurden Matrixlösungen von $1\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ α -Cyano-4-hydroxyzimtsäure in Acetonitril / THF 7:1 (v/v) und Analytlösungen von $1\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ des jeweiligen NPEO-Tensids in Acetonitril / THF 3:1 (v/v) verwendet. Nach dem Mischen von $90\text{ }\mu\text{l}$ der Matrixlösung und $10\text{ }\mu\text{l}$ der Analytlösung oder einer Verdünnung derselben wurde durch Verdampfen des Lösemittels auf dem Target auskristallisiert. Zur Desorption und Ionisation wurde ein Stickstofflaser bei 337 nm verwendet. Im positiven Ionisationsmodus zeigten die MALDI-ToF-Massenspektren von NPEO zwei homologe Reihen von kationisierten Molekülen, das Natriumaddukt $[\text{M} + \text{Na}]^+$ und das Kaliumaddukt $[\text{M} + \text{K}]^+$. Dabei überwiegt $[\text{M} + \text{Na}]^+$ eindeutig. Diese Methode wurde zur Bestimmung der Ethoxymereverteilung und der mittleren Molekulargewichte einiger NPEO-Tenside verwendet [28]. Instrumentelle Nachweisgrenzen für die untersuchten NPEO liegen in Abhängigkeit vom Molekulargewicht der Ethoxylate im Bereich von $10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $4500\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ [26].

Für die Analyse von NPEO-Tensiden mit geringem mittleren Ethoxylierungsgrad stellte sich heraus, dass *meso*-Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin als alternative Matrix geeignet ist [28]. Unter Verwendung von Natriumacetat als Dotierungsmittel werden ebenfalls bevorzugt $[\text{M} + \text{Na}]^+$ -Ionen gebildet. Diese Matrix hat den Vorteil, dass sie im Gegensatz zu α -Cyano-4-hydroxyzimtsäure selber keine störenden Ionen im niedrigen Massebereich von m/z 100 bis m/z 500 bildet.

Mit Hilfe der MALDI-MS wurde beispielsweise auch die Biodegradierung von OPEO untersucht, bei der ein Abbau der Polyoxyethylengruppe und eine Oxidation zu OPEC beobachtet werden konnte [316, 317, 318].

Auch die FAB-MS kann z. B. zur Analyse von NPEO und Alkoholethoxylaten in Wasserproben nach geeigneter Extraktion genutzt werden. Ventura et al. [390, 392] nutzten mit NaCl gesättigtes Thioglycerol als Matrix bei der FAB, die mit einem 1,1-*mA*-Strahl aus einer Cs^+ -Kanone durchgeführt wurde [392]. Auch der Beschuss mit Xe-Atomen mit einer Energie von 8 keV fand Anwendung [390]. Polyethoxylierte Tenside wie APEO konnten dabei leicht anhand ihrer $[\text{M} + \text{Na}]^+$ -Ionen nachgewiesen werden. Charakteristisch ist ein dem Ethoxylierungsgrad entsprechendes Muster mit Differenzen zwischen den einzelnen Ionen von 44 amu . Die primäre Bildung von $[\text{M} + \text{Na}]^+$ anstelle von $[\text{M} + \text{H}]^+$ ließ sich durch Zugabe von Salzen zur Matrix steigern [390, 392]. Protonierung der Oligomere ergibt ansonsten Pseudomolekülionen $[\text{NP}(\text{EO})_n - m\text{ EO} + \text{H}]^+$ mit $m = 0$ bis $m = n_{\text{EO}}$ [363]. Analog zu den EI-Massenspektren können für APEO auch bei FAB-Massenspektren Ionen beobachtet werden, die durch Benzylspaltung gebildet werden [390].

Ionisation der APEO-Proben kann bei der MS auch mittels Felddesorption erfolgen. Schneider und Levsen [321] untersuchten das NPEO-Tensid Arkopal N 060 mit Hilfe dieser

massenspektrometrischen Methode, indem sie mit Inden aktivierte Wolframdrahtemitter verwendet haben.

Mit Hilfe der Fließinjektionsanalyse gekoppelt mit der MS konnten beispielsweise methanolische Extrakte nach SPE der APEO aus behandelten und unbehandelten Abwässern analysiert werden [237]. Fließinjektion diente auch dazu, die Biodegradierung von NPEO während der Abwasserbehandlung massenspektrometrisch zu verfolgen [324]. Bei der Kopplung der Fließinjektion mit der MS werden analoge Spektren wie bei der LC-MS (s. **Abs. 3.2.4.2**) erhalten, wenn ESI oder APCI als Ionenquellen dienen und mit den gleichen Lösemittelsystemen gearbeitet wird [237]. Auch der Einsatz der FIA-Tandemmassenspektrometrie mit ESI und APCI wurde berichtet [237].

Die Verwendung einer speziellen Spritzenpumpe erlaubte bei einer Flussrate von $3 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ den Transport kleinster Probenmengen von bis zu $100 \mu\text{l}$ in ein ESI-MS [267]. Eine Quantifizierung der NPEO-Ethoxymere wurde anhand der Kaliumadduktionen $[\text{M} + \text{K}]^+$ vorgenommen, nachdem die eingengten Extrakte von Flusswasserproben mit Ammoniumacetat- und Kaliumchloridlösungen versetzt wurden. Bei der ESI-MS-Analyse kann der Zusatz von NaCl oder KCl zu den Proben gezielt zur Bildung entsprechender Adduktionen genutzt werden [337]. Beim Einsatz der ESI-MS ohne vorherige LC-Trennung kommt aufgrund des Ionensuppressionseffektes durch Umwelt- und Abwassermatrices dem Clean-Up der Proben eine noch größere Bedeutung zu.

APCI-MS im positiven Ionisationsmodus diente zur simultanen Bestimmung des Ethoxylierungsgrades und der Kettenlänge der Alkylgruppe von APEO und Fettalkoholethoxylaten [286]. Dabei konnten auch Polyglykolether als Kontaminaten identifiziert werden.

3.7 Weitere analytische Methoden

Spektroskopische und photometrische Methoden sind klassische Methoden, die vielfach in der Analytik von APEO verwendet wurden. So haben beispielsweise Drugärin et al. [116] mit Hilfe der UV-Spektroskopie und der Refraktometrie den Ethoxylierungsgrad von NPEO ermittelt. Sie konnten zeigen, dass sowohl die Absorptivität a bei $\lambda_{\text{max}} = 227 \text{ nm}$ als auch der Brechungsindex bei konstanter Temperatur mit dem mittleren Ethoxylierungsgrad korrelieren. In beiden Fällen ließen sich lineare Kalibrierfunktionen mit NPEO-Standards mit bekanntem \bar{n}_{EO} ermitteln. Daher sind diese beiden Methoden zur Ermittlung von mittleren Ethoxylierungsgraden für reine APEO-Tenside geeignet. Spektroskopische Methoden dienten auch dazu, mit Hilfe der sogenannten Extinktionsabweichungsmethode die kritische Micellbildungskonzentration von APEO zu bestimmen [411].

Die Infrarotspektroskopie wurde zur qualitativen Identifikation und Unterscheidung von nichtionischen Tensiden angewandt. Um aussagekräftige Spektren zu erhalten, wurde bei

Abbauversuchen von APEO in Waschmitteln zunächst eine Trennung der unterschiedlichen organischen Komponenten mittels Dünnschichtchromatographie vorgenommen [168]. Charakteristische, sehr starke und breite Banden für EO-Addukte aufgrund der aliphatischen C-O-C -Valenzschwingung liegen im Bereich von 1100 cm^{-1} bis 1130 cm^{-1} [168]. Diese lassen eine Differenzierung zu AEO jedoch nicht zu. Dies gelingt jedoch anhand der Gerüstschwingungen des Aromaten, die von hohem diagnostischen Wert sind. Die Banden bei 1610 cm^{-1} , 1581 cm^{-1} und 1512 cm^{-1} sind in ihrer Lage sehr konstant und praktisch unabhängig von der Kettenlänge der Oxyethylengruppe [168].

Es ist bereits lange bekannt, dass sich nichtionische Tenside, die Polyoxyethylengruppen besitzen, mit Heteropolysäuren der VI. Nebengruppe in Gegenwart von Erdalkalitionen fällen lassen [86, 179, 320]. Meistens findet Fällung als Bariumkomplex mit Phosphormolybdänsäure, Phosphorwolframsäure oder Silicowolframsäure statt. Dabei ist die Phosphorwolframsäure am besten geeignet [86, 179, 320]. Solche Komplexe sind zur gravimetrischen, colorimetrischen oder atomabsorptionsspektrometrischen Analyse beispielsweise der Ethylacetatextrakte nach Ausblasen von Wasserproben mit Stickstoff geeignet. So wurde z. B. nach dem Ausfällen der nichtionischen Tenside mit Ca^{2+} und Phosphorwolframsäure aus dem Ethylacetatextrakt von Wasser- und Abwasserproben der Niederschlag in Aceton gelöst und Calcium mittels Flammenatomabsorptionsspektrometrie nach Zusatz von SrCl_2 bestimmt [157]. Solche Methoden haben jedoch den Nachteil, dass sie nicht spezifisch für APEO sind, sondern nur zur Bestimmung von Summenparametern geeignet sind, da keine Differenzierung zwischen verschiedenen EO-Addukten möglich ist.

Der in diesem Zusammenhang verbreitetste Summenparameter besteht in der Bestimmung der bismutaktiven Substanzen (BiAS). Dabei handelt es sich um normierte Verfahren [99, 412]. Nach DIN 38 409 - H 23-2 [99] werden die in der Wasserprobe enthaltenen nichtionischen Tenside (APEO und AEO mit $n_{EO} = 5$ bis $n_{EO} = 30$) mit Stickstoff in Ethylacetat ausgeblasen und mit modifiziertem Dragendorffschen Reagenz ($\text{KBiI}_4 + \text{BaCl} + \text{Eisessig}$) gefällt. Nach Filtrieren und Lösen des Niederschlages wird das Bismut potentiometrisch mittels Pyrrolidindithiocarbamatlösung bestimmt, das dem Gehalt an nichtionischen Tensiden entspricht. Einen weiteren solchen Summenparameter stellt die Bestimmung der cobaltthiocyanataktiven Substanzen (CTAS) dar. Nichtionische Tenside reagieren mit $(\text{NH}_4)_2[\text{Co}(\text{SCN})_4]$ in wässriger Lösung zu einem wasserunlöslichen, blauen Komplex, der mit Dichlormethan extrahiert werden kann [417]. Eine Extinktionsmessung der organischen Phase erfolgt beispielsweise bei 625 nm [417]. Sithole und Allen [340] haben bei der Untersuchung von Prozessproben der Zellstoff- und Papierherstellung NPEO in Gegenwart von Phosphatpuffern mit $\text{Co}(\text{SCN})_2$ komplexiert und den gebildeten Komplex mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurde photometrisch bei 276 nm bestimmt. Auch eine Zweiphasentitration des Natriumkomplexes von

NPEO mit Natriumtetrakis(4-fluorphenyl)borat erfolgte zur Bestimmung von NPEO in Abwasser und Speisewasser [192] sowie in Proben aus Reinigungsbädern vor und nach Ultrafiltration [69].

Etherspaltung kann sowohl bei der Bestimmung des Gesamtoxyethylengehaltes als auch bei der Analyse des Alkylphenolanteils genutzt werden. Dazu wird zunächst die Ethoxylatkette der APEO durch Etherspaltung abgebaut und anschließend werden die Spaltprodukte analysiert. Der Gesamtoxyethylengehalt in EO-Addukten wie APEO kann iodometrisch bestimmt werden, wenn mittels schwach siedender 57 %-iger Iodwasserstoffsäure bei 130 °C die Etherbindungen der Ethoxylate unter Rückfluss gespalten werden [338]. Aus 1 mol EO wird 1 mol Ethen und 1 mol I₂ gebildet. Das gebildete Iod kann mit Natriumthiosulfatlösung und Stärke als Indikator titriert werden. Luftsauerstoff wird vor der Reaktion entfernt und während der Reaktion ausgeschlossen, indem mit CO₂ oder N₂ gespült wird. Am Kühler abgeschiedenes sowie auskristallisiertes Iod wird vor der Titration durch Kaliumiodidlösung in Lösung gebracht. Eine Modifikation dieser Methode bestehen in der in-situ-Generierung von HI mittels Kaliumiodid und Phosphorsäure [184]. Die Umsetzung mit Kaliumiodid und Phosphorsäure in Abwesenheit von Wasser hat den Vorteil, dass höhere Reaktionstemperaturen erreicht werden, was die Etherspaltung begünstigt. Es existieren standardisierte Verfahren zur iodometrischen Bestimmung des Oxyethylengehaltes [19, 184]. Alternativ kann die Etherspaltung auch mit einem Gemisch 1:1 (v/v) aus 45 %-iger Bromwasserstoffsäure und Essigsäure durchgeführt werden. Nach Extraktion des gebildeten 1,2-Dibromethan kann dessen Menge mittels GC-FID [197] oder GC-ECD [342] bestimmt werden, um daraus den Oxyethylengehalt von z. B. NPEO zu ermitteln [197]. Espejo et al. [123] haben die Etherspaltung mittels Iodwasserstoffsäure bei der NPEO-Analyse dazu genutzt, die Nonylphenole aus extrahierten Abwasserproben freizusetzen. Der Zusatz von Natriumhypophosphit soll während der Reaktion die Iodierung der Nonylphenole verhindern. Die Nonylphenole wurden mit n-Hexan aus der mit Wasser verdünnten Reaktionsmischung extrahiert und mittels GC-MS bestimmt. Für OPEO wurden mit dieser Methode nur sehr geringe Wiederfindungsraten erreicht, da teilweise vollständige Eliminierung der *tert*-Octyl-Gruppe stattfand. El-Khateeb et al. [120] haben nach der Spaltung von NPEO mit Iodwasserstoffsäure das gebildete Nonylphenol isoliert und spektrophotometrisch bei 236 nm detektiert.

Die Verwendung von ionenselektiven Elektroden zur potentiometrischen Titration oder potentiometrischen Detektion bei der Bestimmung von APEO wurde mehrfach berichtet [220, 259, 260, 264, 265, 266]. Üblicherweise werden Polymermembranelektroden aus ionisch modifiziertem Polyvinylchlorid verwendet, die die Weichmacher o-Nitrophenyloctylether oder o-Nitrophenylphenylether enthalten [264, 265, 266]. Es können auch Flüssigmembranelektroden verwendet werden [220, 259, 260]. Bei beiden Elektrodenarten dient als Ionophor

in der Regel das Tetraphenylboratsalz eines NPEO-Barium(II)komplexes [220, 259, 260, 264, 265, 266]. Bei der potentiometrischen Titration von NPEO kann in der Gegenwart von Ba^{2+} mit Tetraphenylborat titriert werden [264]. Solche Polymermembranelektroden sind auch zur potentiometrischen Detektion von ethoxylierten, nichtionischen Tensiden mittels Fließinjektionsanalyse geeignet [265, 266]. Dabei konnte mit einer On-Line-Anreicherung mittels SPE die Empfindlichkeit gesteigert werden, so dass Nachweisgrenzen von $1 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NP(EO)₁₂ von 10-ml-Proben möglich waren [266].

Zur Bestimmung des Ethoxylierungsgrades von NPEO fand für reine Tenside auch die Elementaranalyse ihre Anwendung [108].

Es wurden auch Methoden, die auf Immunoassays basieren und zum Screening von Tensiden dienen, entwickelt. Dabei wurde auch die Etablierung von geeigneten Immunoassays zur Bestimmung von NPEO, OPEO, NP oder LAS vorangetrieben. Einen Überblick solcher Methoden geben Fránek et al. [137]. Beispielsweise wurde ein hochspezifisches enzymverknüpftes Immunosorbensassay ELISA speziell zur Bestimmung des OPEO-Tensids Triton X entwickelt, dass sowohl selektiv auf die Octylkette als auch den mittleren Ethoxylierungsgrad von $\bar{n}_{EO} = 9$ bis $\bar{n}_{EO} 10$ reagiert [403]. Es wurden auch vollständig automatisierte Immunoassaysysteme zum Nachweis von APEO entwickelt, die monoklonale Antikörper verwenden, die chemisch gebunden sind an bakteriellen, magnetischen Partikeln [269]. Als weiteres Beispiel kann ein Off-Line-Kapillarimmunoassay für AP und APEO genannt werden, das auf einem Chinoprotein-Glucose-Dehydrogenase-Biosensor basiert [311].

Kapitel 4

Problemstellung und Ziele der Arbeit

Wie aus den zahlreichen, zuvor dargestellten Beispielen hervorgeht, gehört die Gruppe der Alkylphenoethoxylate zu den umweltrelevanten Chemikalien, die bisher sehr intensiv untersucht wurden. Dabei ergaben sich aus den zahlreichen Untersuchungen und dabei gewonnenen Erkenntnissen immer wieder neue Fragestellungen. Letztendlich resultierte aus den veröffentlichten Untersuchungen zum Umweltverhalten dieser Tensidgruppe und der damit hervorgerufenen Diskussion um die Umweltverträglichkeit der APEO die Richtlinie 2003/53/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Juni 2003 [125], in der die Verwendung von NPEO und NP eingeschränkt wird. In Europa dürfen daher seit 2003 Nonylphenoethoxylate und Nonylphenol nicht in Konzentrationen von 0,1 % (w/w) oder mehr in Pestizid- und Biozidformulierungen enthalten sein [125]. Dieser Grenzwert gilt auch für andere gewerbliche, industrielle oder häuslichen Zubereitungen. Ungeachtet dieser Richtlinie gelten jedoch bestehende, vor deren Inkrafttreten erteilte nationale Genehmigungen für Pestizide oder Biozidprodukte, denen NPEO als Formulierungshilfsstoff beigemischt ist, bis zu ihrem Auslaufen weiter.

Daraus ergab sich die Notwendigkeit, APEO in solchen Formulierungen nachweisen und bestimmen zu können. Aus dieser Fragestellung ergab sich der Schwerpunkt dieser Arbeit, der in der Entwicklung eines analytischen Verfahrens, das eine Quantifizierung von APEO in Pflanzenschutzmitteln ermöglicht, bestand, da es bisher nur wenige veröffentlichte Ergebnisse gab, die sich mit der Fragestellung der Bestimmung von APEO in Pestizidformulierungen im Speziellen [66, 323, 364] oder mit der Bestimmung von APEO in gewerblichen, industriellen oder häuslichen Zubereitungen im Allgemeinen beschäftigen [22, 67, 69, 166, 168, 253, 251, 257, 313, 398, 414]. Wie bereits einleitend dargestellt wurde, haben die meisten Arbeiten, die zum Thema APEO-Analytik publiziert wurden, eine Untersuchung von Umweltproben zum Inhalt. Geht es bei solchen Untersuchungen meistens um Spurenanalytik, bei der nachweisstarke analytische Verfahren von großer Bedeutung

sind, so stellt die Untersuchung von Pflanzenschutzmitteln (PSM) andere Anforderungen an die analytischen Methoden. Inwieweit die zwar zahlreichen, aber primär für die APEO-Bestimmung in Umweltproben entwickelten chromatographischen Methoden für diese spezielle Fragestellung geeignet sind, war bisher wenig bekannt. Im Gegensatz zur APEO-Analytik von Umweltproben, die wie erwähnt meistens im Spurenbereich stattfindet, stellt die Untersuchung von PSM keine großen Herausforderungen an die Nachweisstärke der heute gängigen chromatographischen Methoden. Die Schwierigkeiten, die mit einer Bestimmung von APEO in PSM verbunden sind, sind anderer Natur.

Die quantitative APEO-Bestimmung in Pestizidformulierungen ist nämlich insofern eine komplexe Aufgabenstellung, als dass zum einen die Ethoxymerenverteilung der als Formulierungshilfsmittel verwendeten APEO als auch die Beschaffenheit der Matrix aufgrund unterschiedlicher Formulierungsformen stark variieren kann. Je nach Formulierungstyp (s. **Abb. 2.5**, S. 25) kann die Ethoxymerenverteilung in den zur Formulierung der PSM eingesetzten APEO-Produkten stark variieren [71, 72, 73, 74, 75]. Dieser Sachverhalt muss z. B. bei der Auswahl geeigneter Extraktionsverfahren oder analytischer Trennmethoden Berücksichtigung finden, da sich mit steigendem Ethoxylierungsgrad die physikochemischen Eigenschaften der APEO deutlich verändern. So nimmt beispielsweise mit steigendem Ethoxylierungsgrad und damit einhergehendem steigendem HLB-Wert die Wasserlöslichkeit von wasserunlöslich (NP(EO)₁) über wenig bis sehr gut wasserlöslich (NP(EO)₂₀) zu [214]. Im Fall der NPEO kommt noch hinzu, dass in Abhängigkeit von dem bei der Ethoxylierung eingesetzten technischen NP unterschiedliche Isomerenverteilungen der Alkylkette im NPEO-Produkt vorliegen können, da sich technische NP signifikant in der Isomerenverteilung unterscheiden können [155, 271]. Die sich daraus ergebenden Einflüsse auf die analytischen Verfahren, wie z. B. das Retentionsverhalten bei der RPLC (s. **Abb. 6.53** S. 211) müssen ebenso Berücksichtigung finden. Ferner hat die Uneinheitlichkeit der Analyten und der zur Kalibration verwendeten APEO-Standards Konsequenzen für die Kalibrierbarkeit der eingesetzten Methoden, so dass es einer geeigneten Kalibrierstrategie bedarf.

Die große Bandbreite der möglichen Matrixbestandteile ist zum einen in den unterschiedlichen Formulierungstypen begründet, hat zum anderen auch ihre Ursache in den unterschiedlichen Wirkstoffen, auf die die Formulierung in ihren Eigenschaften, wie z. B. dem Netzvermögen, dem Emulsionsverhalten oder dem Trocknungsverhalten nach der Deposition, abgestimmt ist. Als Konsequenz hieraus ergibt sich die hohe Anzahl von z. Z. über 1000 in Deutschland zur Formulierung von PSM zugelassenen Beistoffen, von denen über 500 Tenside sind und die von pflanzlichen Ölen über Farb- und Geruchsstoffe bis hin zu aromatenhaltigen Lösemitteln reichen [51]. Dies stellt sehr hohe Anforderungen an die Selektivität des analytischen Verfahrens, da für analytische Prüfmethoden sowohl

eine zweifelsfreie Identifikation der Analyten als auch eine möglichst wenig fehlerbehaftete Quantifizierung notwendig ist.

Aus diesem Grund sind chromatographische Trennverfahren die Verfahren der Wahl. Wegen der geringen Flüchtigkeit der APEO mit höherem Ethoxyierungsgrad, die hauptsächlich zur Formulierung von PSM Verwendung finden, scheiden gaschromatographische Verfahren zur Quantifizierung aus. Da für diese Arbeit kein LC-MS-System zur Verfügung stand, ist die HPLC unter Verwendung von UV-Detektoren oder besser noch mittels Fluoreszenzdetektion das Verfahren der Wahl, da es sehr gut für die Analytik von APEO geeignet ist.

Wegen der oben erwähnten großen Vielfalt der zu erwartenden Matrixbestandteile wurde bei der Durchführung der Methodenentwicklung und -optimierung neben dem Erarbeiten einer universellen Kalibrierstrategie Hauptaugenmerk auf die Minimierung der zu erwartenden Matrixeinflüsse gelegt. Dies läßt sich grundsetzlich auf zwei verschiedene Weisen erreichen. Zum einen kann dies durch Abtrennen der Matrix von den Analyten während der Probenvorbereitung geschehen, also durch geeignete Extraktionsverfahren. Daher standen vor allem auch qualifizierte Probenvorbereitungsmethoden im Mittelpunkt der Arbeit, die den unterschiedlichen Formulierungstypen und der damit stark variierenden Zusammensetzung der Probenmatrix Rechnung tragen. Zum anderen können Matrixeinflüsse durch Erhöhen der Selektivität der analytischen Methode vermindert werden. In dem Falle der HPLC also durch eine Steigerung der Trennleistung und der Selektivität der Analytdetektion. Beide Wege wurden im Rahmen dieser Arbeit bei der Optimierung der chromatographischen Verfahren verfolgt.

Kapitel 5

Methoden und Materialien

5.1 Herkunft und Art der untersuchte Proben

5.1.1 Pflanzenschutzmittel

Alle untersuchten Pflanzenschutzmittel (PSM) stammten vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) in Berlin. Dabei handelte es sich um Pflanzenschutzmittel, die zu diesem Zeitpunkt auf dem deutschen Markt zugelassen waren und deren Herkunft und Zusammensetzung aus datenschutzrechtlichen Gründen vom BVL nicht mitgeteilt wurden. Acht unterschiedliche Pflanzenschutzmittelproben (PSM 1 bis PSM 8) wurden im Juni 2005 vom BVL zugesandt, zwei weitere Proben (PSM 9 und PSM 10) im August 2005. Fünf der zugesandten Proben waren emulgierbare Konzentrate (PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8), zwei Proben waren Suspensionskonzentrate (PSM 6 und PSM 10). Bei den anderen drei Proben handelte es sich um wasserdispergierbare Granulate (PSM 1, PSM 2 und PSM 9).

5.1.2 Synthetische und pflanzliche Öl

Es wurden die in in **Tabelle 5.1** angegebenen synthetischen Öle und die in in **Tabelle 5.2** angegebenen pflanzlichen Öle untersucht, die vor allem auch zur Formulierung von Pflanzenschutzmitteln und zur Überprüfung der Extraktionsmethoden verwendet wurden. Die synthetischen Öle ÖLS1 bis ÖLS8 und ÖLS11 wurden von einem Prüflabor im August 2006 zur Verfügung gestellt, das nicht genannt werden will. Aus datenschutzrechtlichen Gründen sind daher nicht alle Daten der betreffenden Öle verfügbar. Bei den Ölen ÖLS1, ÖLS2 und ÖLS10 handelt es sich um bereits verwendete Öle. Mit Ausnahme von ÖLP4, das im August 2006 erworben wurde, wurden alle pflanzlichen Öle im Februar 2007 im deutschen Handel erworben.

Tabelle 5.1: Untersuchte synthetische Öle.

Sorte	Bezeichnung	Hersteller	
Getriebeöl	Liqui Moly ATF III	Liqui Moly GmbH (Ulm)	(Öl S1)
Getriebeöl	CLP 460	unbekannt	(Öl S2)
Hydrauliköl	HLP 46	unbekannt	(Öl S3)
Krafttrafoöl	unbekannt	unbekannt	(Öl S4)
Lichttrafoöl	unbekannt	unbekannt	(Öl S5)
Motoröl	Mobil 5W-40	ExxonMobil Deutschland GmbH (Hamburg)	(Öl S6)
Motoröl	Valvoline SAE 15W-40	Valvoline (Deutschland) GmbH & Co. KG (Hamburg)	(Öl S7)
Motoröl	unbekannt	unbekannt	(Öl S8)
Schmieröl	Rotary Vacuum Pump Oil Lubricant Oil No. 46	Shimadzu Emit Co., Ltd. (Kyoto, Japan)	(Öl S9)
Silikonöl	Baysilone® M 350	GE Bayer Silicones (Leverkusen)	(Öl S10)
Walzöl	Gerolub®	Henkel AG & Co. KGaA (Düsseldorf)	(Öl S11)

Tabelle 5.2: Untersuchte pflanzliche Öle.

Sorte / Bezeichnung	Hersteller	
Feines deutsches Rapsöl (1. Pressung)	Carl Geiger GmbH & Co. KG (Marbach am Neckar)	(Öl P1)
Sojola Sojaöl	Vandemoortele Deutschland GmbH (Dresden)	(Öl P2)
Bellasan Reines Sonnenblumenöl (Aldi)	Brökelmann + Co Oelmühle GmbH + Co (Hamm)	(Öl P3)
Buttella Reines Sonnenblumenöl (Aldi)	Brökelmann + Co Oelmühle GmbH + Co (Hamm)	(Öl P4)
Thomy Reines Sonnenblumenöl	Deutsche Thomy GmbH (Frankfurt am Main)	(Öl P5)

5.1.3 Geschirrspülmittel und Reinigungsmittel

Es wurden die in **Tabelle 5.3** angegebenen Geschirrspülmittel und Reinigungsmittel untersucht, die im Juni 2006 im deutschen Handel erworben wurden. Die angegebenen Ge-

schirrspülmittel und Reinigungsmittel wurden vor allem auch für Aufstockungsexperimente verwendet.

Tabelle 5.3: Untersuchte Geschirrspülmittel und Reinigungsmittel.

Art	Bezeichnung	Hersteller	
Geschirrspülmittel	Pril Kraft-Gel	Henkel AG & Co. KGaA (Düsseldorf)	(GSM 1)
Geschirrspülmittel	Ultra Palmolive Original	Colgate-Palmolive GmbH (Hamburg)	(GSM 2)
Geschirrspülmittel	Ultra Reinny	Penny Markt GmbH (Bad Homburg)	(GSM 3)
Schnellreiniger	Mucasol [®]	Merz Hygiene GmbH (Frankfurt am Main)	(SRM 1)
Teppichreiniger	Hagerty [®] 5* Shampoo Carpet Cleaner Concentrate	Hagerty Germany (St. Katharinen)	(TRM 1)
Universalreiniger	Bims [®] Essigreiniger (Aldi)	Luhns GmbH (Greven)	(URM 1)
Universalreiniger	Bims [®] Grundreiniger (Aldi)	Luhns GmbH (Greven)	(URM 2)
Universalreiniger	Frosch [®] Neutral Reiniger	Werner & Mertz GmbH (Mainz)	(URM 3)

5.1.4 Waschmittel

Es wurden die in **Tabelle 5.4** angegebenen Waschmittelpulver untersucht, die im Oktober 2005 im Handel in Libyen erworben wurden. Die angegebenen Waschmittelpulver wurden vor allem auch für Aufstockungsexperimente verwendet.

Tabelle 5.4: Untersuchte Waschmittelpulver.

Bezeichnung	Hersteller	
Al Ghassoul (für Handwäsche)	Al Taharur Factory for Detergents (Tripolis, Libyen)	(WMP 1)
Omo Lavendel (Trempage et Lavage)	Unilever N. V. Tunesien, Marokko, Algerien	(WMP 2)
Persil	Al Ghassoul Factory in Lizenz für Henkel (Tripolis, Libyen)	(WMP 3)
Tide Extra (Lemon)	Maroccan Modern Industries (Casablanca, Marokko)	(WMP 4)

5.2 Verwendete Chemikalien

5.2.1 Alkylphenole, Alkylphenoethoxylate und andere Tenside

Tabelle 5.5: Verwendete Alkylphenole, Alkylphenoethoxylate und andere Tenside.

Handelsname / Verbindung	Spezifikation (Reinheit)	Hersteller
Arkopal N 040 (NP4EO)	$\bar{n}_{EO} = 4$	Clariant Iberica (Tarragona, Spanien)
Arkopal N 060 (NP6EO)	$\bar{n}_{EO} = 6$	Clariant Iberica (Tarragona, Spanien)
Arkopal N 100 (NP10EO)	$\bar{n}_{EO} = 10$	Clariant Iberica (Tarragona, Spanien)
Arkopal N 200 (NP20EO)	$\bar{n}_{EO} = 20$	Clariant Iberica (Tarragona, Spanien)
Arkopal O 100 (OP10EO)	$\bar{n}_{EO} = 10$	Clariant México (Jiutepec, Mexiko)
Arkopal O 167 (OP16EO)	$\bar{n}_{EO} = 16$, $\sim 30\%$ (w/w) Wassergehalt	Clariant México (Jiutepec, Mexiko)
Arkopal O 257 (OP25EO)	$\bar{n}_{EO} = 25$, $\sim 30\%$ (w/w) Wassergehalt	Clariant México (Jiutepec, Mexiko)
4- <i>tert</i> -Butylphenol (4-BP)	praktisch ($\geq 90\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
4-Dodecylbenzolsulfonsäure (DBSA)	technisch ($\sim 90\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Emulsogen TS 160 (TSP16EO)	$\bar{n}_{EO} = 16$	Clariant (Burgkirchen)
Marlophen [®] NP 3 (NP3EO)	$\bar{n}_{EO} = 3$	Sasol Germany (Marl)
Marlophen [®] NP 6 (NP6EO)	$\bar{n}_{EO} = 6$	Sasol Germany (Marl)
Marlophen [®] NP 9 (NP9EO)	$\bar{n}_{EO} = 9$	Sasol Germany (Marl)
Marlophen [®] NP 12 (NP12EO)	$\bar{n}_{EO} = 12$	Sasol Germany (Marl)
Marlophen [®] NP 15 (NP15EO)	$\bar{n}_{EO} = 15$	Sasol Germany (Marl)
Natriumdodecylbenzolsulfonat (DBS)	technisch ($\sim 80\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
4-Nonylphenol (4-NP)	Isomere ngemisch (99%)	Acros (Geel, Belgien)
4-Nonylphenol (4-NP)	praktisch ($\geq 90\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
4- <i>n</i> -Nonylphenol (4- <i>n</i> -NP)	PESTANAL [®] ($\geq 98\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
4- <i>tert</i> -Octylphenol (4-OP)	technisch ($\sim 85\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Sapogenat T 040 (TBP4EO)	$\bar{n}_{EO} = 4$	Clariant (Burgkirchen)
Sapogenat T 060 (TBP6EO)	$\bar{n}_{EO} = 6$	Clariant (Burgkirchen)
Sapogenat T 110 (TBP6EO)	$\bar{n}_{EO} = 11$	Clariant (Burgkirchen)
Triton X-100 (OP10EO)	$\bar{n}_{EO} = 10$	Sigma-Aldrich (Seelze)

Zur Formulierung von Pflanzenschutzmitteln, bei der Optimierung der HPLC-Methoden, zur Identifizierung der APEO mittels HPLC und GC-MS, zur Kalibrierung der HPLC-Detektoren, bei der Isolierung von APEO-Oligomeren, für Wiederfindungsexperimente und zur Untersuchung von Matrixeinflüssen auf die analytischen Methoden wurden die in **Tabelle 5.5** angegebenen Alkylphenoethoxylate, Alkylphenole und Tenside verwendet.

5.2.2 Pestizide

Zur Formulierung von Pflanzenschutzmitteln und zur Identifizierung der Wirkstoffe in den untersuchten Pflanzenschutzmitteln wurden die folgenden Herbizide und Insektizide in Form von analytischen Standards (PESTANAL[®]) der Fa. Riedel-de Haën (Seelze) verwendet:

Herbizide

Desmedipham (Ethyl-*N*-(3-phenylcarbamoyloxyphenyl)carbamat)

Ethofumesat ((\pm)-2-Ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethyl-benzofuran-5-yl-methansulfonat)

Isoproturon (*N*-(4-Isopropylphenyl)-*N*',*N*'-dimethylharnstoff)

Metamitron (4-Amino-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5-on)

Metolachlor (2-Ethyl-6-methyl-*N*-(2-methoxy-1-methylethyl)chloracetanilid)

Metsulfuron-methyl (Methyl-2-[[[[[4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-carbonyl]amino]sulfonyl]benzoat)

Phenmedipham (Methyl-3-(3-methylcarbaniloyloxy)carbanilat)

Insektizide

Demeton-S-methylsulfon (*S*-2-Ethylsulfonylethyl-*O,O*-dimethylthiophosphat)

Methamidophos (*O,S*-Dimethylamidothiophosphat)

5.2.3 Lösemittel

Zur Herstellung wässriger Lösungen oder von Lösemittelgemischen wurde ausschließlich Reinstwasser verwendet, dass mit Hilfe einer kombinierten Reinstwasseranlage der Fa. Millipore Corporate (Billerica, Massachusetts, USA) gewonnen wurde. Zur Herstellung des Reinstwassers wurde ein MilliQ[®] Academic A10-System mit Leitungswasser, das zunächst mit Hilfe eines Elix[®] 3-Systems gereinigt wurde, gespeist.

Tabelle 5.6: Zur Herstellung von Lösungen und Lösemittelgemischen, zur Formulierung von PSM sowie für die HPLC verwendete Lösemittel.

Lösemittel	Spezifikation (Reinheit)	Hersteller
Aceton	technisch	KMF Laborchemie (St. Augustin)
Acetonitril	HPLC gradient grade ($\geq 99,9\%$)	KMF Laborchemie (St. Augustin)
Acetonitril	PESTANAL [®] ($\geq 99,9\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Cyclohexan	CHROMASOLV [®] , für HPLC ($\geq 99,7\%$)	Sigma-Aldrich (Seelze)
Cyclohexan	PESTANAL [®] ($\geq 99,5\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Cyclohexanon	reinst ($\geq 99,0\%$)	Merck (Darmstadt)
Dichlormethan	Analytical Reagent Grade ($\geq 99,8\%$)	Fisher Chemicals (Loughborough, Großbritannien)
Diethylenglykol	technisch	KMF Laborchemie (St. Augustin)
1,2-Ethandiol	technisch	Fluka (Buchs, Schweiz)
Ethanol	absolut, SPECTRANAL [®] ($\geq 99,8\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Ethanol	technisch	KMF Laborchemie (St. Augustin)
Ethylacetat	CHROMASOLV [®] , für HPLC ($\geq 99,7\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Ethylacetat	PESTANAL [®] ($\geq 99,9\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
<i>n</i> -Hexan	PESTANAL [®] ($\geq 95\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Isophoron	purum ($\geq 97\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Kerosin	purum, Sdp. 190–250 °C	Fluka (Buchs, Schweiz)
Methanol	CHROMASOLV [®] , für HPLC ($\geq 99,9\%$)	Sigma-Aldrich (Seelze)
Methanol	PESTANAL [®] ($\geq 99,9\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
1-Methyl-2-pyrrolidon	($\geq 99,7\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Petroleum	purum, special, Sdp. 180–220 °C	Fluka (Buchs, Schweiz)
2-Propanol	CHROMASOLV [®] , für HPLC ($\geq 99,8\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
2-Propanol	PESTANAL [®] ($\geq 99,8\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Solvesso 100	enthält Solvent Naphtha leicht, Sdp. 175–213 °C	Caldic Deutschland Chemie (Düsseldorf)
Solvesso 150	enthält Kerosin (Erdöl), Sdp. 155–183 °C	Caldic Deutschland Chemie (Düsseldorf)
Toluol	CHROMASOLV [®] , für HPLC ($\geq 99,8\%$)	Sigma-Aldrich (Seelze)
Xylol	technisch, Isomerengemisch	KMF Laborchemie (St. Augustin)

Zur Herstellung von Lösungen, Lösemittelgemischen und mobilen Phasen für die HPLC, zur Formulierung von PSM sowie zu allen weiteren Zwecken wurden die in **Tabelle 5.6** angegebenen Lösemittel verwendet. Für diejenigen Lösemittel, die mehrfach in verschiedenen Spezifikationen angegeben sind, gilt folgendes: Zur Herstellung von mobilen Phasen und Standardlösungen für die HPLC wurden neben Reinstwasser und Ethanol (absolut, SPECTRANAL[®]) ausschließlich Lösemittel mit der Spezifikation CHROMASOLV[®] für HPLC und HPLC gradient grade verwendet. Lösemittel mit der Spezifikation PESTANAL[®] wurden für die GC-MS oder präparative Zwecke verwendet, während Lösemittel mit der Spezifikation technisch ausschließlich zur Formulierung von PSM verwendet wurden.

5.2.4 Weitere Chemikalien

Tabelle 5.7: Sonstige verwendete Chemikalien.

Chemikalie	Spezifikation (Reinheit)	Hersteller
Ammoniumacetat	'BAKER ANALYZED' ($\geq 97\%$)	J. T. Baker (Phillipsburg, New Jersey, USA)
Benzoessäure	Standard für die Elementaranalyse (68,85 % C, 4,95 %H, 26,2 %O)	HEKAtech GmbH (Wegberg)
2,5-Dihydroxybenzoessäure	98 %	Aldrich (Milwaukee, Wisconsin, USA)
Essigsäure	p. a. ($\geq 99,8\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Kaliumacetat	reinst (99,0 %–100,5 %)	Merck (Darmstadt)
Lithiumchlorid	wasserfrei, purum p. a. ($\geq 98,0\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Magnesiumsulfat	getrocknet, reinst ($\geq 97\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Magnesiumacetattetrahydrat	puriss. p. a. ($\geq 99,0\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Natriumacetat	wasserfrei, zur Analyse ($\geq 99,0\%$)	Merck (Darmstadt)
Natriumchlorid	puriss. p. a. ($\geq 99,5\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Natriumhydrogencarbonat	puriss. p. a. ($\geq 99,5\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)
Polyethylenglykol	$M_n = 950\text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ – $1050\text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	Sigma-Aldrich (Seelze)
Saccharose	für biochemische Zwecke	Merck (Darmstadt)
Saccharose	Standard für die Elementaranalyse (42,10 % C, 6,48 %H, 51,41 %O)	HEKAtech GmbH (Wegberg)
Schwefelsäure	puriss. p. a. (95 %–97 %)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Tetrabutylammonium- hydrogensulfat (TBAHS)	puriss. ($\geq 99,0\%$)	Fluka (Buchs, Schweiz)
Trifluoressigsäure (TFA)	SPECTRANAL [®] ($\geq 99,8\%$)	Riedel-de Haën (Seelze)

5.2.5 Gase

Für die Elementaranalyse wurden Helium und Sauerstoff der Reinheit 5.0 verwendet. Helium der Qualität 5.0 wurde ebenfalls für die GC-MS gebraucht. Stickstoff der Reinheit 5.0 und Argon der Reinheit 4.8 diente für präparative Zwecke. Alle verwendeten Gase stammten von der Fa. Air Liquide Deutschland GmbH (Düsseldorf).

5.3 Verwendete Geräte

Die nachfolgenden Tabellen geben einen Überblick über die verwendeten Analysengeräte (**Tab. 5.8**), die für die Herstellung von Kalibrier- und Referenzlösungen verwendeten Geräte (**Tab. 5.9**) sowie die für die Probenvorbereitung verwendeten Geräte (**Tab. 5.10**). Auf die Geräte sowie das verwendete Zubehör wird im Einzelnen bei der Beschreibung der analytischen und präparativen Methoden eingegangen. Ansonsten wurden handelsübliche Glasgeräte und Probengefäße verwendet. Alle verwendeten Glasgeräte waren aus Borosilikatglas gefertigt.

Tabelle 5.8: Verwendete Analysengeräte.

Gerät / Bezeichnung	Hersteller	Verweis
Elementaranalysator Euro EA	HEKAtech GmbH (Wegberg)	5.9
Flugzeitmassenspektrometer GSG future MALDI-TOF MS	GSG Mess- und Analysengeräte GmbH (Bruchsal)	5.7
Flüssigkeitschromatograph LC 1100	Agilent Technologies, Inc. (Santa Clara, Kalifornien, USA)	5.5.1
Flüssigkeitschromatograph LC-10 AT	Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan)	5.5.1
Flüssigkeitschromatograph LC-10 AT _{vp}	Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan)	5.5.1
Gaschromatograph GC-17A mit Massenspektrometer GCMS-QP5050A	Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan)	5.6.1
Gaschromatograph GC-2010 mit Massenspektrometer GCMS-QP2010S	Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan)	5.6.1
Lumineszenzspektrometer LS 50 B	PerkinElmer (Waltham, Massachusetts, USA)	5.8.2
Spektrofluorophotometer RF-5301 PC	Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan)	5.8.2
UV/VIS-Spektrophotometer Lambda 5	PerkinElmer (Waltham, Massachusetts, USA)	5.8.1
UV/VIS-Spektrophotometer UV-1650 PC	Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan)	5.8.1

Tabelle 5.9: Für die Herstellung von Kalibrier- und Referenzlösungen verwendete Geräte.

Gerät / Bezeichnung	Hersteller	Verweis
Analysenwaage AE 240	Mettler-Toledo GmbH (Greiffensee, Schweiz)	A.1
Kolbenhubpipetten (Reference [®] , Research [®] , Varipette [®])	Eppendorf AG (Hamburg)	A.2
Vollpipetten (10 ml bis 100 ml Nennvolumen)	Brand GmbH + Co KG (Wertheim)	A.3
Meßkolben aus Glas (10 ml bis 1000 ml Nennvolumen)	Brand GmbH + Co KG (Wertheim)	A.4

Tabelle 5.10: Für die Probenvorbereitung verwendete Geräte.

Gerät / Bezeichnung	Hersteller	Verweis
Apparatur zum Einengen von Lösemitteln	—	5.4.5.4
Ausblaseapparatur nach Wickbold	—	5.4.2.1
Dispergiergerät Ultra-Turrax [®] T 25 basic mit Dispergierwerkzeug S 25 N-8G	Janke & Kunkel GmbH & CO. KG IKA Labortechnik (Staufen)	5.4.2.3
Magnetrührer IKAMAG [®] RCT basic mit Heizung und Kontaktthermometer	Janke & Kunkel GmbH & CO. KG IKA Labortechnik (Staufen)	5.4.5.4
Schüttelmaschine Promax 2020	Heidolph Instruments GmbH & Co.KG (Schwabach)	5.4.2.3
Schüttelmaschine DSG 304	Heidolph Instruments GmbH & Co.KG (Schwabach)	5.4.1
Schüttler MS 1 Minishaker	Janke & Kunkel GmbH & CO. KG IKA Labortechnik (Staufen)	5.4.2
CHROMABOND [®] -Vakuumeinheit für die SPE	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG (Düren)	5.4.2.2
Ultraschallbad UR 1	Retsch GmbH (Haan)	5.4.1

5.4 Präparative Methoden

5.4.1 Allgemeine Bemerkungen

Da es sich bei den untersuchten PSM, Waschmittel, Spülmittel, Reinigungsmittel und synthetischen Ölen um industrielle Zubereitungen handelte, kam der Probenkonservierung keine große Bedeutung zu, da es sich um lagerstabile Erzeugnisse handelte. Um eine Aufnahme von Luftfeuchtigkeit zu verhindern, wurden alle Proben in gasdichten Probenflaschen gelagert.

Bevor ein Aliquot der Probe zur Probenvorbereitung bzw. Analyse entnommen wurde, wurde die jeweilige Probe homogenisiert. Dabei wurden ölartige Proben und Proben in Form von Lösungen mindestens 10 *min* mittels Schüttelmaschine DSG 304 homogenisiert. Alle Proben in Form von Emulsionen und Dispersionen wurden mit Hilfe eines Ultraschallbades mindestens 15 *min* lang homogenisiert.

Im Allgemeinen erfolgte die Reinigung von Glas- und sonstigen Geräten durch mindestens dreifaches Spülen mit Ethanol (technisch) und anschließend, mindestens dreifachen Spülen mit Reinstwasser. Bei ölhaltigen Proben oder anderen in Ethanol unlöslichen Proben wurden auch andere, für den jeweiligen Zweck geeignete Lösemittel verwendet. Alle verwendeten Glas- sowie sonstigen Geräte wurden mittels isokratischer RPLC (Shimadzu-HPLC 1 oder Agilent-HPLC, Methode RPLC1, s. **Abs. 5.5.4.1**) vor der Verwendung auf APEO getestet, indem entweder mit Ethanol (absolut, SPECTRANAL[®]) oder Acetonitril (HPLC gradient grade) ausgespült wurde und die Lösemittel danach analysiert wurden.

5.4.2 Extraktionsmethoden

5.4.2.1 Extraktion nach Wickbold

Da PSM in der Regel wasserlöslich oder in Wasser dispergierbar bzw. emulgierbar sind, können in den Formulierungen enthaltene Tenside aus wässriger Phase nach der Methode von Wickbold [402] isoliert werden. Dazu wurden die PSM in einer wässrigen Salzlösung von 200 g/l NaCl und 10 g/l NaHCO₃ gelöst, dispergiert oder emulgiert und dann in Anlehnung an DIN 38409-H23-2 [99] extrahiert. Je nach Formulierungstyp mußte die Vorlage der Probe in die Ausblaseapparatur (ca. 140 *ml*, s. **Abb. 5.1**) auf unterschiedliche Weise erfolgen.

Vorlage von wasserdispergierbaren Granulaten

Eine geeignete Menge an wasserdispergierbaren Granulat wurde abgewogen, in die leere Ausblaseapparatur gegeben und diese etwa zur Hälfte mit der wässrigen Salzlösung

befüllt. Zum Homogenisieren wurde mit N_2 durchströmt (ca. $120\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$). Um eine zu starke Schaumbildung zu unterdrücken, wurden gegebenenfalls 10 ml Ethanol zugesetzt. Anschließend wurde die Apparatur bis zum oberen Ablasshahn mit der wässrigen Salzlösung aufgefüllt.

Vorlage von Suspensionskonzentraten

Suspensionskonzentrate wurden zunächst in einen 250-ml -Erlenmeyerkolben mit Schliff eingewogen und mit 100 ml der wässrigen Salzlösung versetzt und bis zum Bilden einer feindispersen Mischung kräftig geschüttelt. Darauf wurde der Inhalt in die Ausblaseapparatur gegossen. Um Rückstände aus dem Erlenmeyerkolben restlos in die Wickbold-Apparatur zu überführen wurde dieser dreimal mit jeweils ca. 10 ml der wässrigen Salzlösung durchgespült.

Vorlage von emulgierbaren Konzentraten und APEO-Standardlösungen

Emulgierbare Konzentrate können, sofern sie vollständig in Ethanol löslich sind, ebenso wie APEO-Standards in Form ethanolischer Lösungen zugegeben werden. Dazu wird ein definiertes Volumen der ethanolischen Lösung in die etwa zur Hälfte mit der wässrigen Salzlösung befüllten Ausblaseapparatur pipettiert und mittels N_2 -Strom (ca. $120\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) durchmischt.

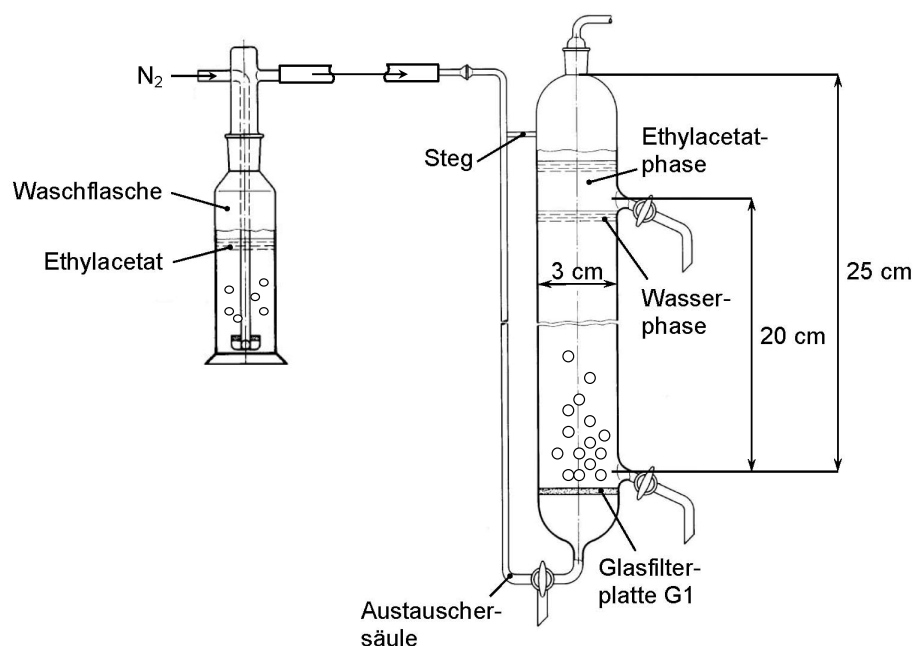


Abbildung 5.1: Für die Extraktion von APEO aus wäßriger Phase nach der Methode von Wickbold verwendete Ausblaseapparatur (ca. 140 ml , in Anlehnung an DIN 38409-H23-2 [99]).

Nach der Vorlage der PSM wurde die Ausblaseapparatur jeweils bis zum oberen Ablashahn mit der wässrigen Salzlösung aufgefüllt, es wurden jeweils 20 ml Ethylacetat als Oberphase zugegeben und 10 min lang mittels eines N_2 -Stroms ($90 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) extrahiert. Der Stickstoff wurde dabei vor dem Durchströmen der wässrigen Phase in einer Gaswaschflasche mit Ethylacetat gesättigt. Nach der Extraktion wurde die Ethylacetatphase mit Hilfe einer Pasteurpipette abgesaugt und in einem verschließbaren Glasgefäß gesammelt. Auf dieselbe Weise wurde weitere dreimal extrahiert. Nach der letzten Extraktion und dem Entfernen der Ethylacetatphase wurde die Gefäßwand der Ausblaseapparatur oberhalb der wässrigen Phase zweimal mit je 5 ml Ethylacetat gespült, wobei das Ethylacetat anschließend ebenfalls entnommen und gesammelt wurde. Die vereinigten Ethylacetatphasen wurden von Wasser befreit, indem dieses mit Hilfe einer Kältemischung aus Trockeneis und 2-Propanol bei ca. -45°C ausgefroren und die Ethylacetatphase mit Hilfe einer Pasteurpipette abgesaugt wurde. Die feste wässrige Phase sowie das Glasgefäß wurden darauf dreimal mit jeweils 2,5 ml Ethylacetat gewaschen, das mit der wasserfreien Ethylacetatphase in einem weiteren verschließbaren Glasgefäß vereinigt wurde. Darauf wurde portionsweise in einem 8-ml-Reagenzglas mit Schraubverschluss im N_2 -Strom bei 60°C bis zur Trockene eingengt (s. **Abs. 5.4.5.4**). In Abhängigkeit von der extrahierten Art und Menge der Probe wurde der Rückstand in 10 ml oder 50 ml Ethanol gelöst. Dabei wurde so verfahren, dass mehrfach jeweils 2,5 ml Ethanol in das Reagenzglas gegeben wurden, welches verschlossen und mittels Minishaker bei 2500 min^{-1} geschüttelt wurde. Die jeweiligen Volumina der ethanolischen Phase wurden in einen entsprechenden Messkolben überführt, der abschließend bis zur Marke mit Ethanol aufgefüllt wurde.

Diese Methode ist grundsätzlich auch für Wasch-, Spül- und Reinigungsmittel geeignet.

5.4.2.2 Festphasenextraktion

Für die SPE wurde eine CHROMABOND®-Vakuumeinheit der Fa. Macherey-Nagel GmbH & Co. KG (Düren) verwendet, die aus einer Glaskammer mit Deckel für 12 SPE-Säulen und einem variablen Gestell für Probengefäße bestand und zusätzlich um Kreuzkontaminationen zu vermeiden mit Edelstahlkonnectoren und verzinkten Messinghähnen ausgestattet war. Zum Erzeugen eines Unterdrucks in der SPE-Vakuumeinheit diente eine Membranpumpe ABM der Fa. Vacuubrand GmbH + CO KG (Wertheim).

Die Festphasenextraktion wurde mit 6-ml-BAKERBOND®-Säulen der Fa. J.T. Baker (Phillipsburg, New Jersey, USA), die mit 1000 mg Kieselgel gefüllt waren, durchgeführt. Wenn nichts anderes angegeben ist, wurden die in **Tabelle 5.11** angegebenen Lösemittelemische oder die reinen Lösemittel Dichlormethan und Methanol zum Konditionieren, Aufgeben der Probe, Waschen und Eluieren verwendet.

Tabelle 5.11: Bei den Versuchen zur SPE verwendete Lösemittelgemische.

Lösemittel	Verhältnis	Abkürzung
Dichlormethan / Cyclohexan	50:50 (<i>v/v</i>)	DCM/C 50:50
Dichlormethan / Cyclohexan	99:1 (<i>v/v</i>)	DCM/C 99:1
Methanol / Wasser	99:1 (<i>v/v</i>)	M/W 99:1
Methanol / Wasser	97,5:2,5 (<i>v/v</i>)	M/W 97,5:2,5
Methanol / Wasser	95:5 (<i>v/v</i>)	M/W 95:5

In der Regel wurden in Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (*v/v*) gelöste Proben mittels der in **Tabelle 5.12** angegebenen Verfahrensschritte extrahiert, die Extrakte bis zur Trockene im N₂-Strom bei 50 °C eingengt, in 5 ml Acetonitril aufgenommen und mittels isokratischen RPLC (Shimadzu-HPLC 2, Methode RPLC 1, s. **Abs. 5.5.4.1**) analysiert. Während der Methodenoptimierung wurden auch von **Tabelle 5.12** abweichende Volumina und Lösemittelzusammensetzungen für die Wasch- und Elutionsschritte verwendet.

Tabelle 5.12: Durchgeführte Verfahrensschritte zur Festphasenextraktion von APEO.

Verfahrensschritt	Lösemittel	Volumen
Konditionierung	DCM/C 50:50	5 ml
Aufgabe der Probe	DCM/C 50:50	5 ml
Standardisierung	DCM/C 50:50	2x1 ml
1. Waschen	DCM/C 50:50	5 ml
2. Waschen	Dichlormethan	5 ml
3. Waschen	DCM/C 99:1	5 ml (ist optional)
Elution der APEO	M/W 95:5	7 ml (alternativ mit 5 ml Methanol)

5.4.2.3 Fest-Flüssig-Extraktion

Schüttelmethode zur APEO-Extraktion mit Ethanol

Eine Extraktion der APEO mit Ethanol wurde mit den Waschmittelpulvern und den Pflanzenschutzmitteln durchgeführt, die in Form von wasserdispergierbaren Granulaten (PSM 1, PSM 2 und PSM 9) oder als in Ethanol unlösliche Suspensionskonzentrate (PSM 6 und PSM 10) vorlagen. Eine geeignete Menge der Probe (0,1 g bis 6 g) wurde jeweils in einem 250-ml-Erlenmeyerkolben mit Schliff eingewogen und mit 100 ml Ethanol versetzt. Nach dem Verschließen der Erlenmeyerkolben mit Stopfen wurden diese mit Hilfe der

Schüttelmaschine Promax 2020 der Fa. Heidolph Instruments GmbH & Co.KG (Schwabach) bei einer Frequenz von 140 min^{-1} mindestens 36 h lang geschüttelt. Darauf wurde so lange gewartet, bis der Überstand klar war, um dann je nach APEO-Konzentration entweder ein Aliquot der Extraktionslösung abzunehmen und direkt zu analysieren oder ein definiertes Volumen in einem Meßkolben mit Ethanol zu verdünnen und dann zu analysieren.

Dispersionsmethode zur APEO-Extraktion mit Acetonitril

Für die Extraktion der wasserdispergierbaren Granulate wurde die bereits in **Abs. 5.4.2.2** beschriebene SPE-Vakuumeinheit sowie leere 6-ml -CHROMABOND®-Glassäulen mit Filterelement der Fa. MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG (Düren) verwendet. Dazu wurde ca. 1 g der Probe in eine Glassäule eingewogen und mit $2,5\text{ ml}$ Acetonitril versetzt und zwei Minuten lang mittels des Dispergiergerätes Ultra-Turrax® T 25 basic mit dem Dispergierwerkzeug S 25 N - 8 der Fa. Janke & Kunkel GmbH & CO. KG (Staufen) dispergiert. Das Extraktionsmittel wurde darauf über das Filterelement in ein 25-ml -Meßkolben durch Evakuieren der Kammer abgesaugt. Es wurde mindestens weitere fünfmal auf dieselbe Weise mit jeweils $2,5\text{ ml}$ Acetonitril extrahiert. Das Volumen wurde durch Zugabe von Acetonitril auf 25 ml aufgefüllt und die Extraktionslösung mittels isokratischen RPLC (Shimadzu-HPLC 1, Methode RPLC 1, s. **Abs. 5.5.4.1**) analysiert.

5.4.2.4 Flüssig-Flüssig-Extraktion

Eine Flüssig-Flüssig-Extraktion wurde mit flüssigen oder öartigen Proben durchgeführt. Diese umfassten PSM-Formulierungen in Form von emulgierbaren Konzentraten, die synthetischen und pflanzlichen Öle sowie die Spül- und Reinigungsmittel.

Soweit nichts anderes angegeben ist, wurden 5 mg bis 100 mg der zu extrahierenden Probe in ein $1,5\text{-ml}$ -Vial eingewogen und mit $750\text{ }\mu\text{l}$ *n*-Hexan versetzt. Darauf wurden entweder $750\text{ }\mu\text{l}$ Wasser / Acetonitril 70:30 (*v/v*) oder $750\text{ }\mu\text{l}$ Wasser / Essigsäure 70:30 (*v/v*) zugegeben und mit einer Frequenz von 2500 min^{-1} mittels Minishaker 10 s lang geschüttelt.

Die wässrige Phase wurde unmittelbar nach der Phasentrennung mittels isokratischen RPLC (Agilent-HPLC 1, Methode RPLC 1, VWD $\lambda = 227\text{ nm}$) analysiert, indem direkt $50\text{ }\mu\text{l}$ der wässrigen Phase aus dem $1,5\text{-ml}$ -Vial injiziert wurden.

5.4.3 Isolierung der APEO-Fraktion aus PSM-Formulierungen

Bevor eine Analyse der APEO mittels Gradienten-NPLC stattfand, wurden die NPEO bzw. OPEO mit Hilfe der isokratischen RPLC (Methode RPLC1, s. **Abs. 5.5.4.1**) unter

Verwendung des Agilent-HPLC-Systems aus den Lösungen bzw. Extrakten isoliert. Die NPEO- bzw. OPEO-Fraktionen wurden je nach zu erwartendem Volumen der Fraktionen in 1,5-*ml*- oder 6-*ml*-Vials mittels des Fraktionensammlers, der retentionszeitabhängig programmiert wurde, gesammelt. NPEO wurde im Intervall von $t_R = 3,6 \text{ min}$ bis $t_R = 5,2 \text{ min}$ gesammelt, OPEO im Bereich von $t_R = 2,8 \text{ min}$ bis $t_R = 3,6 \text{ min}$. Die genauen Start- und Endzeiten der Fraktionierung wurden jeweils der Peakbreite und -form angepasst. Es wurden in der Regel $50 \mu\text{l}$ der Probenlösung zur Fraktionierung injiziert.

Für die Analyse mittels Gradienten-NPLC (s. **Abs. 5.5.5**) wurden die gesammelten Fraktionen jeweils im N_2 -Strom bei 40°C bis zur Trockene eingengt (s. **Abs. 5.4.5.4**) und in $1000 \mu\text{l}$ *n*-Hexan / 2-Propanol 98:2 (*v/v*) aufgenommen.

Für die Analyse mittels MALDI-ToF-MS und GC-MS wurden größere APEO-Mengen isoliert. Zu diesem Zweck wurden daher 15 mal jeweils $100 \mu\text{l}$ der PSM-Lösungen bzw. Extrakte fraktioniert, indem die entsprechenden OPEO- bzw. NPEO-Fraktionen für jeden Durchlauf jeweils in demselben 6-*ml*-Vial gesammelt wurden. Dabei wurde nach jedem Durchlauf das Lösemittel jeweils im N_2 -Strom bei 40°C bis zur Trockene eingengt (s. **Abs. 5.4.5.4**). Anschließend wurde in $1500 \mu\text{l}$ Ethanol aufgenommen.

5.4.4 Isolierung von APEO-Ethoxymeren mittels Adsorptionschromatographie

Einzelne APEO-Ethoxymere wurden für die Zuordnung der Peaks in den Chromatogrammen der Gradienten-NPLC benötigt. Die Isolierung von NPEO- und OPEO-Ethoxymeren wurde mit Hilfe des Agilent-HPLC-Systems mittels Adsorptionschromatographie an einer stationären Phase aus porösen graphitisierten Kohlenstoff (PGC) durchgeführt.

Tabelle 5.13: Chromatographische Parameter zur Isolierung einzelner APEO-Ethoxymere mittels Adsorptionschromatographie.

HPLC-System:	Agilent-HPLC		
Stationäre Phase:	5 μm Hypercarb (10 mm x 4 mm I.D.)		
Mobile Phase:	Acetonitril		
Injektionsvolumen:	50 μl		
Flussrate:	Gradientenelution		
	0 min \mapsto 4 min	0,5 ml \cdot min $^{-1}$	\mapsto 1,0 ml \cdot min $^{-1}$ (lin.)
	4 min \mapsto 10 min	1,0 ml \cdot min $^{-1}$	\mapsto 5,0 ml \cdot min $^{-1}$ (lin.)
	10 min \mapsto 20 min	5,0 ml	
Start Rückspülen:	10 min		
Säulentemperatur:	20 °C		
Detektion:	UVD ($\lambda = 277$ nm)		

Dabei wurde die HPLC-Konfiguration zum Rückspülen der HPLC-Säulen (s. **Abb. 5.3**, S. 121) verwendet. Die chromatographischen Parameter sind der **Tabelle 5.13** zu entnehmen. Zur Isolierung von NPEO-Ethoxymere wurde eine Stammlösung von 1,136 g \cdot l $^{-1}$ Arkopal N 040 in Acetonitril verwendet, OPEO-Ethoxymere wurden aus einer Stammlösung von 1,144 g \cdot l $^{-1}$ Triton X-100 in Acetonitril isoliert. Es wurden die in **Tabelle 5.14** angegebenen Fraktionen in 1,5-ml-Vials oder 6-ml-Vials gesammelt.

Tabelle 5.14: Fraktionierung von Arkopal N 040 und Triton X-100 mittels Adsorptionschromatographie.

Arkopal N 040				Triton X-100			
Nr.	t_{Start} / min	t_{Ende} / min	$V / \mu l$	Nr.	t_{Start} / min	t_{Ende} / min	$V / \mu l$
1	1,56	1,80	182	1	0,79	1,23	320
2	1,90	2,10	154	2	1,27	1,62	251
3	2,79	3,03	222	3	1,65	2,08	335
4	3,13	3,48	330	4	2,11	2,68	486
				5	2,71	3,42	674
				6	3,45	4,30	1103
				7	4,33	5,18	1602
				8	5,21	6,00	1912

Um Lösungen mit höheren Konzentrationen zu erhalten, wurden bei Bedarf die Fraktionen bei wiederholten Durchläufen in demselben Vial gesammelt. Dabei wurde zwi-

schen jedem Durchlauf das Lösemittel jeweils im N₂- oder Argonstrom bei 60 °C bis zur Trockene eingengt (s. **Abs. 5.4.5.4**). Alle gesammelten Fraktionen wurden mittels GC-MS (s. **Abs. 5.6**) untersucht, um die APEO-Oligomere in den Fraktionen zu identifizieren. Ein Teil dieser Lösungen wurde dann direkt zum Spiken von APEO-haltigen Lösungen bzw. als Referenzlösungen zur Ethoxymerenzuordnung in den NPLC-Chromatogrammen verwendet. Dazu wurde im N₂- oder Argonstrom bei 60 °C bis zur Trockene eingengt und anschließen in 1000 µl *n*-Hexan / 2-Propanol 98:2 (*v/v*) aufgenommen.

5.4.5 Sonstige präparative Methoden

5.4.5.1 Formulierung von Pflanzenschutzmitteln

Zur Überprüfung der Richtigkeit der APEO-Bestimmung mittels RPLC nach Flüssig-Flüssig-Extraktion wurden neun PSM selber formuliert. Es wurden Formulierungen der beiden Herbizide Ethofumesat und Metolachlor in den Lösemitteln Xylol, Solvesso 100 und Solvesso 150 hergestellt. Zur Formulierung wurden die nichtionischen Tenside Marlophen NP 9, Arkopal N 040 und Arkopal N 100 sowie das anionische Tensid 4-Dodecylbenzolsulfonat in Form seines Natriumsalzes verwendet. Ferner enthielten die PSM Silikonöl oder Rapsöl als weitere Hilfsmittel. Eine genaue Zusammensetzung der hergestellten PSM ist in **Tabelle 5.15** angegeben.

Tabelle 5.15: Zusammensetzung der formulierten Pflanzenschutzmittel (alle Angaben sind Gewichts-%).

	Nichtionisches Tensid	Anionisches Tensid	Weiteres Hilfsmittel	Herbizid
PSM A	2,0 % Marlophen NP 9 in Xylol	2,2 % NaDBS	1,9 % Silikonöl	0,9 % Ethofumesat
PSM B	4,0 % Arkopal N 100 in Xylol	8,3 % NaDBS	1,2 % Silikonöl	2,9 % Ethofumesat
PSM C	1,0 % Arkopal N 040 in Xylol	1,7 % NaDBS	0,8 % Silikonöl	1,5 % Metolachlor
PSM D	2,0 % Marlophen NP 9 in Solvesso 150	1,9 % NaDBS	–	1,6 % Ethofumesat
PSM E	3,7 % Arkopal N 100 in Solvesso 150	1,4 % NaDBS	–	3,3 % Ethofumesat
PSM F	2,0 % Arkopal N 040 in Solvesso 150	1,0 % NaDBS	1,9 % Silikonöl	1,0 % Ethofumesat
PSM G	2,3 % Marlophen NP 9 in Solvesso 100	0,9 % NaDBS	14,6 % Rapsöl	0,6 % Metolachlor
PSM H	2,3 % Arkopal N 100 in Solvesso 100	1,0 % NaDBS	14,6 % Rapsöl	0,6 % Metolachlor
PSM I	2,2 % Arkopal N 040 in Solvesso 100	0,9 % NaDBS	14,7 % Rapsöl	0,6 % Metolachlor

5.4.5.2 Herstellen von Lösungen

Zur Herstellung von Lösungen wurden die in **Tabelle 5.9** aufgelisteten Geräte und die in **Tabelle 5.6** angegebenen Lösemittel verwendet. Was die Richtigkeit der Konzentrationsangaben von Lösungen und insbesondere von Kalibrierlösungen angeht, sei auf **Anhang A** verwiesen.

Wegen der guten Löslichkeit der APEO in Ethanol, Methanol und Acetonitril wurden Stamm-, Vergleichs- und Kalibrierlösungen in diesen drei Lösemitteln hergestellt. Außerdem wurden Stammlösungen, die zur Herstellung von Kalibrierlösungen für die RPLC dienten oder für die Untersuchungen mittels SPE dienten, in Acetonitril / Wasser 80:20 (*v/v*), Methanol / Wasser 75:25 (*v/v*), Wasser / Acetonitril 70:30 (*v/v*), Wasser / Essigsäure 70:30 (*v/v*) und Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (*v/v*) hergestellt. Falls nichts anderes angegeben ist, wurden Stammlösungen in den unterschiedlichen Lösemitteln aller APEO im Bereich von $1\text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $10\text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ verwendet.

Die Herstellung von Lösungen geringerer Konzentration erfolgte durch Verdünnen mit

dem jeweiligen Lösemittel. Um systematische Fehler auszuschließen, wurden mindestens zwei Stammlösungen jedes APEO-Standards zur Herstellung von Kalibrierlösungen verwendet. Wenn nichts anderes angegeben ist, wurden APEO-Kalibrierlösungen in den Bereichen $10 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $200 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, $15 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $150 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, $30 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $300 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ und $50 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $500 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ verwendet.

Da die Einwaage genau gleicher Mengen wegen der hohen Viskosität der APEO nicht möglich war, wurden äquimolare Lösungen durch Verdünnen der APEO-Stammlösungen mit dem jeweiligen Lösemittel dargestellt.

Lösungen zur Untersuchung der APEO-Standards mittels NPLC-FLD wurden üblicherweise durch Verdünnen der ethanolischen Stammlösungen um den Faktor 100 mit *n*-Hexan / 2-Propanol 98:2 (*v/v*) hergestellt, da wegen der hohen Polarität gerade der langkettigen APEO die Löslichkeit zum Herstellen konzentrierter Stammlösungen in *n*-Hexan / 2-Propanol 98:2 (*v/v*) nicht ausreichte.

Lösungen der Alkylphenole wurden üblicherweise in Konzentrationen von $0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ in Ethanol, Methanol oder Acetonitril hergestellt und diese für die jeweiligen Zwecke weiter verdünnt.

Ethanolische Lösungen von PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8 wurden für die direkte Analyse mittels RPLC, NPLC, GC-MS und MALDI-ToF-MS sowie für die Durchführung der weiteren Experimente je nach Löslichkeit, APEO-Gehalt und Verwendungszweck in unterschiedlichen Konzentrationen ($0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $7,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) hergestellt. Lösungen dieser PSM ($2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ – $30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) wurden für die SPE in Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (*v/v*) hergestellt.

Soweit nichts anderes angegeben ist, wurden von den in **Abs. 5.2.2** angegebenen Pestizidstandards ethanolische Lösungen in Konzentrationen von $0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $1,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ verwendet.

5.4.5.3 Aufstocken von Pflanzenschutzmitteln und anderen Matrices

Aufstocken von Lösungen

Lösungen der verschiedenen Proben, die unverdünnt untersucht werden sollten, wurden mit APEO aufgestockt, indem ein geeignetes Volumen der entsprechenden APEO-Stammlösung in einem Meßkolben vorgelegt wurde, das Lösemittel im N₂- oder Argonstrom bei 40 °C abgeblasen wurde (s. **Abs. 5.4.5.4**) und mit der zu untersuchenden Probenlösung bis zur Marke aufgefüllt wurde.

Lösungen der Proben, die vor der Analyse verdünnt werden mußten, wurden mit APEO aufgestockt, indem ein dem Verdünnungsfaktor entsprechendes Volumen der Probenlösung in einen Meßkolben vorgelegt wurde, ein geeignetes Volumen der entsprechenden APEO-

Stammlösung im selben Lösemittel zugefügt wurde und dann mit dem Lösemittel bis zur Marke aufgefüllt wurde.

Aufstocken von Ölen, Konzentraten, Emulsionen und Dispersionen

Je nach aufzustockendem Gehalt wurden in dem entsprechenden Massenverhältnis zunächst der APEO-Standard und dann das Öl, das Konzentrat, die Emulsion oder die Dispersionen in einem 8-ml-Pyrex[®]-Reagenzgläsern mit Schraubverschluß und Teflondichtung der Fa. SciLabware (Staffordshire, Großbritannien) eingewogen und dann mittels Minishaker bei einer Frequenz von 2500 min^{-1} mindestens 1 min lang homogenisiert. Bevor ein Aliquot aus den Probengefäßen zur Analyse oder sonstigen Verwendung entnommen wurde, wurden die aufgestockten Proben auf dieselbe Weise erneut homogenisiert.

Aufstocken von pulverförmigen Proben und Granulaten

Für die Wiederfindungsexperimente wurden pulverförmige Proben und Granulate aufgestockt, indem zunächst die aufzustockende Probenmenge in einen Glaszylinder (10 cm x 2,5 cm I.D.) mit Schliff (NS 29/32) eingewogen wurde und dann mit der entsprechenden Masse des APEO-Standards versetzt wurde. Der Glaszylinder wurde darauf je nach Füllhöhe in einem Winkel von 15° bis 25° bei $160 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ mit Hilfe eines Rotationsmotors für Glaskolben mit Schliff des Typs VV 1 der Fa. Heidolph Instruments GmbH & Co.KG (Schwabach) 18 h lang rotiert.

Da eine homogene Verteilung der APEO trotz des langen Homogenisierungsprozesses wegen der teilweise geringen aufgestockten Mengen nicht sichergestellt werden konnte, wurde bei den Wiederfindungsexperimenten jeweils die gesamte aufgestockte Probe extrahiert.

5.4.5.4 Einengen von Lösemitteln bis zur Trockene

Während der verschiedenen Schritte der unterschiedlichen Probenvorbereitungsmethoden, wie z. B. nach der Isolierung der APEO-Fraktion mittels RPLC und nach der SPE der APEO, war es häufiger notwendig, Proben bis zur Trockene einzuengen, um diese dann anschließend in einem anderen Lösemittel aufzunehmen. Zu diesem Zweck wurde die Rührheizplatte IKAMAG[®] RCT basic mit Kontaktthermometer der Fa. Janke & Kunkel GmbH & CO. KG IKA Labortechnik (Staufen) und eine selbst angefertigte Einheit aus 12 Edelstahlkanülen, die einzeln mittels Ventilen verschlossen werden konnten und über ein Schlauchsystem mit Druckregelung mit einer Druckgasflasche verbunden waren, verwendet. Mit verschiedenen speziell angefertigten Aluminiumheizblöcken, die mit Bohrungen zur Aufnahme von entweder 1,5-ml-Vials, 6-ml-Vials oder 8-ml-Pyrex[®]-Reagenzgläsern mit Schraubverschluß der Fa. SciLabware (Staffordshire, Großbritannien) versehen waren,

konnten unterschiedlich große Volumina eingengt werden. Dazu wurden die entsprechenden Probengefäße auf 40 °C bis 60 °C temperiert und das Lösemittel wurde mit einem Stickstoff- oder Argonstrom abgeblasen.

5.5 Flüssigkeitschromatographische Methoden

5.5.1 Konfiguration der verwendeten HPLC-Systeme

Für die Experimente standen drei verschiedene Flüssigkeitschromatographen zur Verfügung. Bei den ersten beiden HPLC-Systemen – nachfolgend als Shimadzu-HPLC 1 und Shimadzu-HPLC 2 bezeichnet – handelte es sich um Flüssigkeitschromatographen der Fa. Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan). Das Shimadzu-HPLC 1-System bestand aus einem LC-10 AT_{vp} Flüssigkeitschromatographen, einem SCL-10 A_{vp} Controller, einem FCV-10 AL_{vp} Solvent-Organizer, einem DGU-14 A Entgaser, einem SIL-10 AD_{vp} Autoinjektor, einem CTO-10 AS_{vp} Säulenofen, einem SPD-M10 A_{vp} Diodenarraydetektoren und einem RF-10 AXL Fluoreszenzdetektor. Die Komponenten des Shimadzu-HPLC 2-Systems waren ein LC-10 AT Flüssigkeitschromatograph, ein CBM-20° Communications Bus Module, ein DGU-20A5 Entgaser, ein SIL-20° Autoinjektor, ein CTO-10 AS_{vp} Säulenofen und ein SPD-20A UV-Detektor. Zur Steuerung dieser beiden Flüssigkeitschromatographen und zur Datenauswertung wurde die Software *LabSolutions LCsolution* (Version 1.02 SP2) ebenfalls von der Fa. Shimadzu Corporation verwendet. Der dritte Flüssigkeitschromatograph – nachstehend als Agilent-HPLC bezeichnet – war ein LC-System der Serie 1100 der Fa. Agilent Technologies, Inc. (Santa Clara, Kalifornien, USA), das aus einer quarternären Pumpe (G1311A QuatPump), einem Mikrovakuumentgaser (G1379 DEGASSER), einem Probengeber (G1313A ALS), einem thermostatisierten Säulenofen (G1313A COLCOM), einem integrierten 2-Positions-6-Wege-Rheodyne-Ventil, einem variablen Wellenlängendetektor (G1314A VWD) und einem Fraktionensammler (G1364A AFC) mit Thermostatisiereinheit (G1330B ALS Therm) bestand. Zusätzlich wurde dieses HPLC-System mit einem 2-Positions-6-Wege-Rheodyne-Schaltventil 7000 der Fa. ERC GmbH (Riemerling) ausgestattet. Zur Steuerung dieses HPLC-Systems und zur Datenauswertung diente die Software *ChemStation for LC* (Rev. A.10.01) ebenfalls von der Fa. Agilent Technologies.

5.5.2 Verwendete HPLC-Säulen

Die **Tabelle 5.16** gibt einen Überblick aller verwendeten HPLC-Säulen.

Tabelle 5.16: Liste der verwendeten HPLC-Säulen.

Bezeichnung	Phase	Dimension	Hersteller
Eurospher 100	5 μ m C18	125 mm x 4 mm I.D.	Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH (Berlin)
Eurospher 100	5 μ m C18	250 mm x 4 mm I.D.	Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH (Berlin)
Hypercarb	5 μ m PGC	10 mm x 4 mm I.D.	Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA)
Hypersil	3 μ m APS-2	100 mm x 4 mm I.D. (+10 mm x 4 mm I.D.)	Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA)
Zorbax Eclipse	5 μ m XDB-C8	150 mm x 4,6 mm I.D.	Agilent Technologies, Inc. (Santa Clara, Kalifornien, USA)

5.5.3 Kopplung von HPLC-Säulen

Um zwei analytische Säulen koppeln zu können, wurde das Agilent-HPLC-System zusätzlich mit zwei 2-Positions-6-Wege-Ventilen ausgestattet. Eines der beiden Ventile ließ sich direkt in die Steuerungssoftware integrieren und konnte daher zeitprogrammiert angesteuert werden. Das zweite Ventil ließ sich manuell schalten. Durch ein entsprechendes Modifizieren der Kapillarverbindungen zwischen dem Injektor, den beiden 2-Positions-6-Wege-Ventilen, den beiden verwendeten analytischen HPLC-Säulen und dem Detektor konnten verschiedene Systemkonfigurationen für das Agilent 1100 HPLC-Systems realisiert werden.

HPLC-Konfiguration zur On-Line-LC-LC-Kopplung

Um eine On-Line-LC-LC-Kopplung zu verwirklichen, die ein zeitprogrammiertes Zuschalten der zweiten analytischen HPLC-Säule gestattet, wurde die in **Abbildung 5.2** dargestellte Anordnung gewählt. Diese Systemanordnung erlaubte es auch, den Flüssigkeitschromatographen wahlweise nur mit der ersten oder der zweiten analytischen HPLC-Säule zu betreiben.

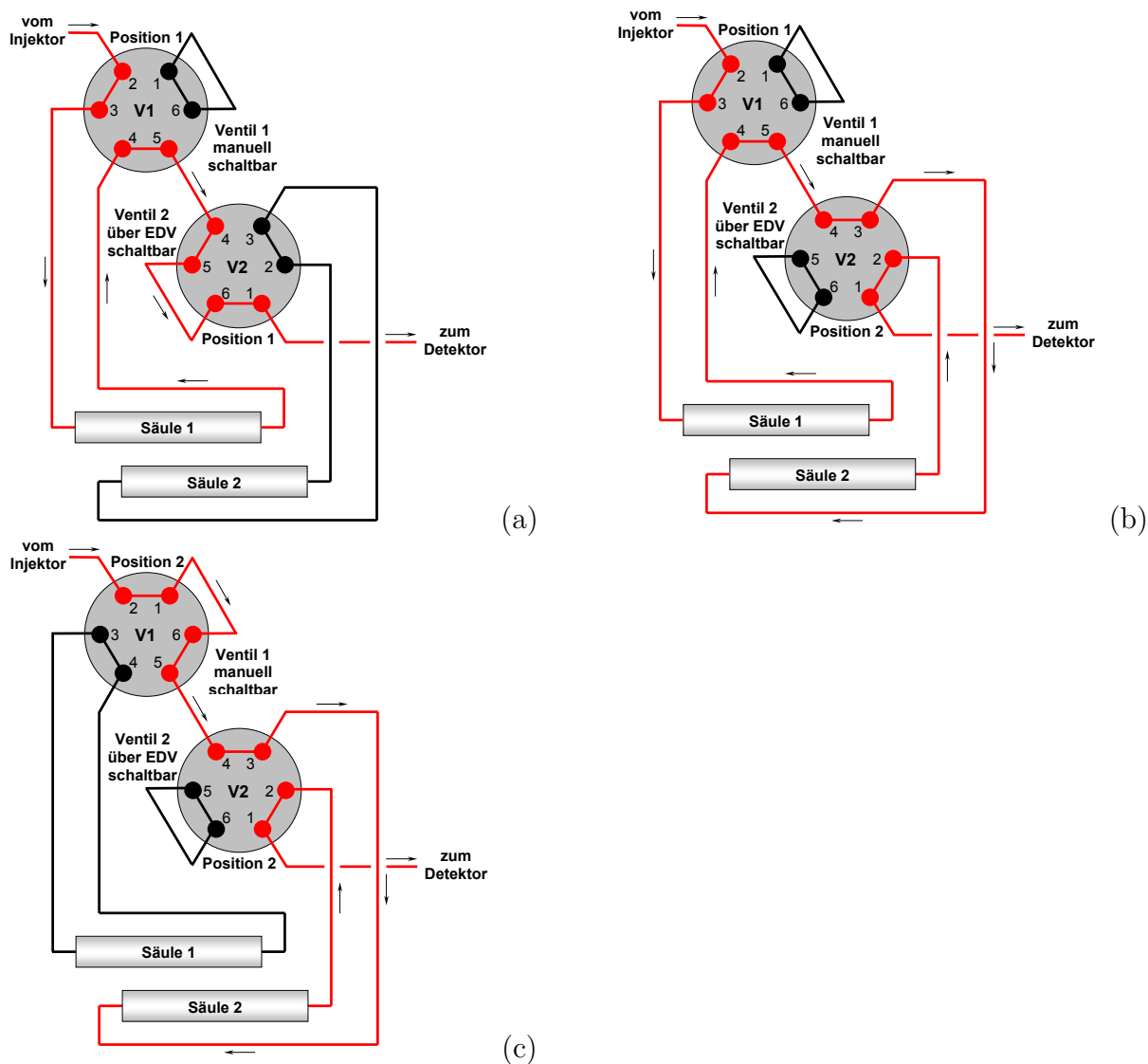


Abbildung 5.2: HPLC-Konfiguration zur On-Line-LC-LC-Kopplung: (a) Stellung der beiden Ventile zur Analyse mit der 1. Säule, (b) Stellung der beiden Ventile beim Zuschalten der 2. Säule zur 1. Säule, (c) Stellung der beiden Ventile zur Analyse mit der 2. Säule.

HPLC-Konfiguration zum automatisierten Rückspülen der HPLC-Säulen

Bei der Analyse von Proben, die Matrixbestandteile enthalten, die deutlich nach den Analyten eluieren, ist ein HPLC-System von Vorteil, das ein Rückspülen der analytischen Trennsäule erlaubt. Das Agilent 1100 HPLC-System wurde daher so modifiziert (s. **Abb. 5.3**), dass ein zeitprogrammiertes Rückspülen der analytischen Trennsäule möglich war. Eine Auswahl der analytischen Trennsäule erfolgte dann mit Hilfe des manuell schaltbaren 2-Positions-6-Wege-Ventils.

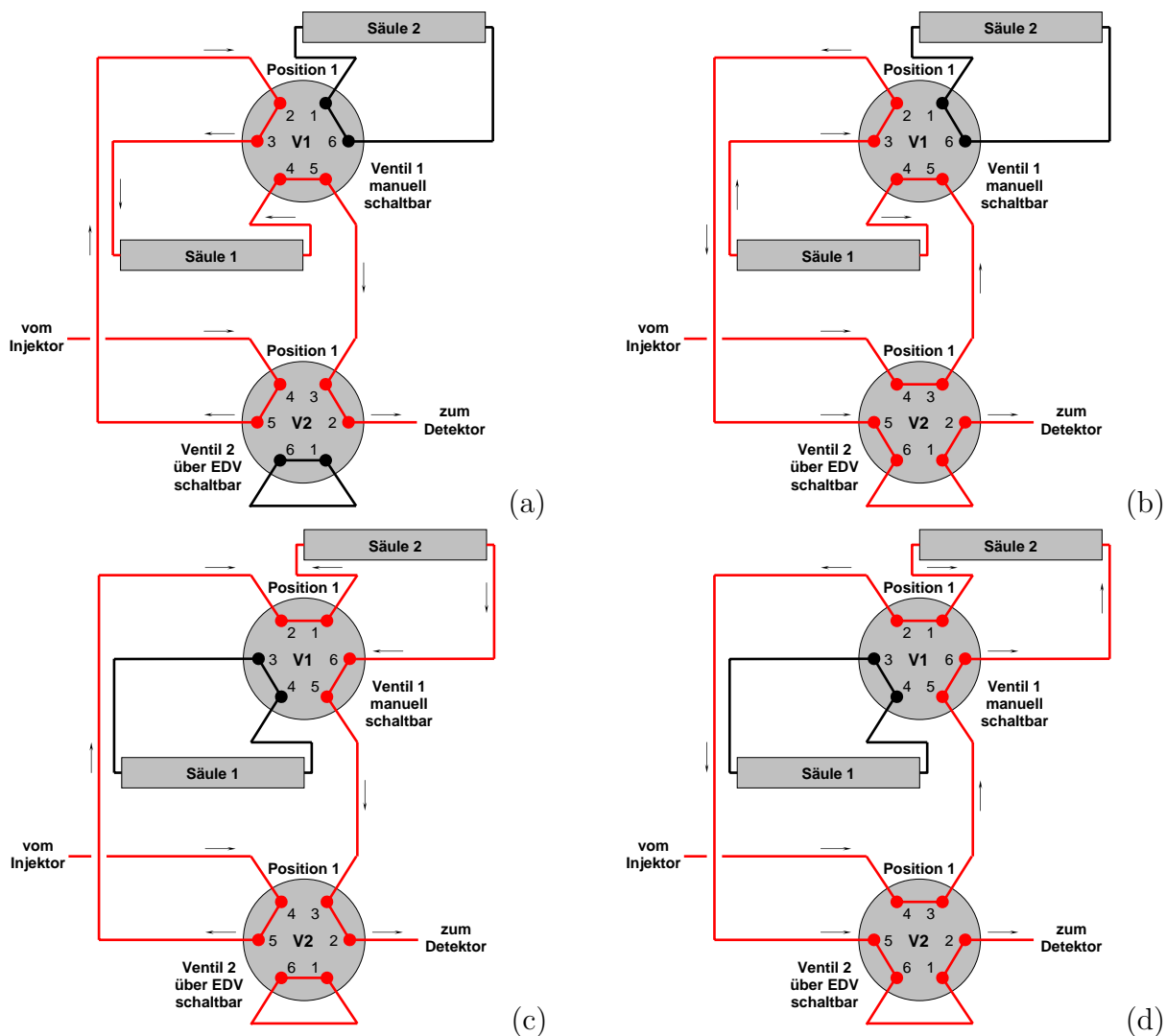


Abbildung 5.3: HPLC-Konfiguration zum automatisierten Rückspülen der analytischen HPLC-Säulen: (a) Stellung der beiden Ventile für eine Analyse mit der 1. Säule, (b) Stellung der beiden Ventile zum Rückspülen der 1. Säule, (c) Stellung der beiden Ventile für eine Analyse mit der 2. Säule, (d) Stellung der beiden Ventile zum Rückspülen der 2. Säule.

5.5.4 Isokratische Flüssigkeitschromatographie an Umkehrphasen

Wenn nichts anderes angegeben ist, wurden die Analysen der Proben mit Hilfe der zwei im nachfolgenden beschriebenen isokratischen RPLC-Methoden – im weiteren als RPLC 1 und RPLC 2 bezeichnet – durchgeführt. Dabei wurden zu unterschiedlichen Zeiten alle drei bzw. zwei verschiedene HPLC-System (s. **Abs. 5.5.1**) verwendet, so dass die verwendeten Detektoren für dieselbe Methode variierten.

5.5.4.1 Methode RPLC 1

Die Messparameter der Methode RPLC 1, die in den meisten Fällen zur Analyse der Proben verwendet wurde, sind nachfolgend in **Tabelle 5.17** aufgeführt.

Tabelle 5.17: Messparameter zur Quantifizierung von APEO in unterschiedlichen Proben mittels isokratischer RPLC mit Methode RPLC 1.

Stationäre Phase:	5 μm Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.)		
Mobile Phasen:	Acetonitril / Wasser 78:22 (<i>v/v</i>)		
Injektionsvolumen:	50 μl		
Flussrate:	1,0 ml \cdot min ⁻¹		
Säulentemperatur:	20 °C		
	Shimadzu-HPLC 1	Shimadzu-HPLC 2	Agilent-HPLC
Detektor 1:	DAD (D ₂ & W)	UV/Vis (D ₂)	VWD (D ₂)
	d = 10 mm	V = 12 μl , d = 10 mm	V = 14 μl , d = 10 mm
	190 nm bis 800 nm	227 nm oder 277 nm	227 nm oder 277 nm
Detektor 2:	FLD (Xe)		
	V = 12 μl		
	λ_{ex} = 277 nm		
	λ_{em} = 300 nm		
	(Empf. x1 / Low / 1)		

5.5.4.2 Methode RPLC 2

Die Messparameter der alternativen Methode RPLC 1 sind der **Tabelle 5.18** zu entnehmen.

Tabelle 5.18: Messparameter zur Quantifizierung von APEO in unterschiedlichen Proben mittels isokratischer RPLC mit Methode RPLC 2.

Stationäre Phase:	5 μm Eurospher 100 C18 (250 mm x 4 mm I.D.)
Mobile Phasen:	Methanol / Wasser 75:25 (<i>v/v</i>)
Injektionsvolumen:	50 μl
Flussrate:	1,0 ml \cdot min ⁻¹
Säulentemperatur:	20 °C

	Shimadzu-HPLC 1	Agilent-HPLC
Detektor 1:	DAD (D ₂ & W)	VWD (D ₂)
	d = 10 mm	V = 14 μl , d = 10 mm
	190 nm bis 800 nm	227 nm oder 277 nm
Detektor 2:	FLD (Xe)	
	V = 12 μl	
	λ_{ex} = 277 nm	
	λ_{em} = 300 nm	
	(Empf. x1 / Low / 1)	

5.5.4.3 LC-LC-Kopplung

Ergänzende Untersuchungen wurden auch mit einer On-Line-Kopplung zweier HPLC-Säulen durchgeführt. Diese war nur mit dem Agilent-HPLC-System zu realisieren, indem die in **Abbildung 5.2** (s. S. 120) dargestellte HPLC-Konfiguration verwendet wurde. Es wurden zwei unterschiedliche mobile Phasen für dieselbe Säulenkombination zur isokratischen Elution verwendet. Einen genauen Überblick über die verwendete Methode gibt **Tabelle 5.19**.

Tabelle 5.19: Messparameter zur Quantifizierung von APEO in unterschiedlichen Proben mittels LC-LC-Kopplung.

HPLC-System	Agilent-HPLC	
HPLC-Konfiguration	s. Abb. 5.2	
Stationäre Phase 1. Dimension:	5 μm Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.)	
Stationäre Phase 2. Dimension:	5 μm Zorbax Eclipse XDB-C8 (150 mm x 4,6 mm I.D.)	
Mobile Phase:	Methanol / Wasser	
Variante:	LC-LC 1	LC-LC 2
Zusammensetzung mobile Phase:	82,5:17,5 (v/v)	68:32 (v/v)
Zuschalten 2. Säule:	4,5 min	13,5 min
Injektionsvolumen:	50 μl	
Flussrate:	1,0 ml \cdot min ⁻¹	
Säulentemperatur:	40 °C	
Detektor:	VWD (D ₂), V = 14 μl , d = 10 mm	
	$\lambda = 227$ nm oder $\lambda = 277$ nm	

5.5.4.4 Kalibration der RPLC

Die Kalibrierung der RPLC erfolgte über die ermittelten Peakfläche der Chromatogramme mit externen Standards in Lösung. Die Kalibrierung sowie die Ermittlung der Verfahrenskennndaten erfolgte in Anlehnung an DIN 38402-51 [100] und DIN 32645 [101]. Es wurde für jede Messreihe mit mindestens zwei unabhängigen Standards jeweils in zehn verschiedenen, äquidistanten Konzentrationsstufen kalibriert. Falls entsprechende Standards vorhanden waren, wurden jeweils Standards verwendet, die der mittleren Molmasse der in den Proben ermittelten entsprachen und die vom selben APEO-Typ (NPEO bzw. OPEO) waren. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte als Mittelwert aus den mit den einzelnen Kalibrierungen bestimmten Gehalten.

In der Regel wurden Kalibrationen in den Konzentrationsbereichen von 10 $\mu mol \cdot l^{-1}$ bis 200 $\mu mol \cdot l^{-1}$, 15 $\mu mol \cdot l^{-1}$ bis 150 $\mu mol \cdot l^{-1}$, 30 $\mu mol \cdot l^{-1}$ bis 300 $\mu mol \cdot l^{-1}$ und 50 $\mu mol \cdot l^{-1}$ bis 500 $\mu mol \cdot l^{-1}$ durchgeführt. Proben mit höheren APEO-Gehalten wurden vor der Analyse entsprechend verdünnt.

Wenn nichts anderes angegeben ist, sind alle Kenndaten für $N_{Kal.} = 5$ Wiederholmessungen an $N_{ESTD} = 10$ Kalibrierproben jedes Standards und $N_{Probe} = 5$ Wiederholmessungen an den Proben ermittelt. Es wurde eine Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art von 1 % ($\alpha = 0,01$) und den Fehler 2. Art von 1 % ($\beta = 0,01$) sowie eine relative Ergebnisunsicherheit von 33,33 % ($k = 3$) zugrunde gelegt.

5.5.5 Flüssigkeitschromatographie an Normalphasen mit Gradientenelution

Wenn nichts anderes angegeben ist, wurden die technischen APEO-Produkte sowie die isolierten APEO mit Hilfe der in **Tabelle 5.20** angegebenen Trennbedingungen untersucht.

Tabelle 5.20: Chromatographische Parameter zur Bestimmung der Ethoxymerenverteilung von APEO mittels NPLC-FLD.

HPLC-System:	Shimadzu-HPLC 1
Stationäre Phase:	3 μm Hypersil APS-2 (100 mm x 4 mm I.D.) + 3 μm Hypersil APS-2 (10 mm x 4 mm I.D.)
Mobile Phasen:	<i>n</i> -Hexan / 2-Propanol 98:2 <i>v/v</i> (A) Ethanol / Wasser 96:4 <i>v/v</i> (B)
Injektionsvolumen:	50 μl
Flussrate:	1,5 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$
Gradient:	<p>APEO mit $n_{\text{EO}} \leq 13$:</p> <p>0 <i>min</i> \mapsto 15 <i>min</i> 100 % A \mapsto 85 % A (linear)</p> <p>APEO mit $n_{\text{EO}} \leq 19$:</p> <p>0 <i>min</i> \mapsto 25 <i>min</i> 100 % A \mapsto 75 % A (linear)</p> <p>APEO mit $n_{\text{EO}} \leq 21$:</p> <p>0 <i>min</i> \mapsto 30 <i>min</i> 100 % A \mapsto 70 % A (linear)</p> <p>APEO mit $n_{\text{EO}} \leq 23$:</p> <p>0 <i>min</i> \mapsto 40 <i>min</i> 100 % A \mapsto 60 % A (linear)</p> <p>APEO mit $n_{\text{EO}} \leq 27$:</p> <p>0 <i>min</i> \mapsto 36 <i>min</i> 95 % A \mapsto 5 % A (linear)</p> <p>APEO mit $n_{\text{EO}} > 27$:</p> <p>0 <i>min</i> \mapsto 38 <i>min</i> 95 % A \mapsto 0 % A (linear)</p> <p>38 <i>min</i> \mapsto 50 <i>min</i> 0 % A</p>
Äquilibration:	linear in 10 <i>min</i> auf 100 % A 10 <i>min</i> mit 100 % A
Säulentemperatur:	20 °C
Detektor:	FLD (Xe), $V = 12 \mu\text{l}$, $\lambda_{\text{ex}} = 277 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 300 \text{ nm}$ (Empfindlichkeit x1 / Low / 1)

5.6 Gaschromatographische Methoden

5.6.1 Konfiguration der verwendeten Gaschromatographen

Für die gaschromatographischen Untersuchungen wurden zwei GC-MS-Systeme der Fa. Shimadzu Corporation (Kyoto, Japan), die mit Quadrupol-Massenspektrometern ausgestattet waren, verwendet. Das erste System bestand aus einem Gaschromatographen GC-17A mit einem Massenspektrometer GCMS-QP5050A. Bei dem zweiten System handelte es sich um einen Gaschromatographen GC-2010 mit einem Massenspektrometer GCMS-QP2010S. Beide Systeme waren mit einem Split/Splitless-Injektor und einem Autosampler AOC-20i ausgestattet. Steuerung beider GC-MS und Auswertung der aufgezeichneten Totalionenströme und Massenspektren erfolgte mit Hilfe der Software *LabSolutions GCMSsolution* (Version 1.02 A) ebenfalls von der Fa. Shimadzu Corporation.

5.6.2 Verwendete GC-Säulen

Die **Tabelle 5.21** gibt einen Überblick der beiden verwendeten GC-Säulen.

Tabelle 5.21: Liste der verwendeten GC-Säulen.

Bezeichnung	Phase	Dimension	Hersteller
DB-1 ms	100 % Dimethylpolysiloxan ($d_F = 0,25 \mu m$)	30 m x 0,32 mm I.D.	J & W Scientific Inc (Folsom, Kalifornien, USA)
SolGel-1 ms	100 % Dimethylpolysiloxan ($d_F = 0,25 \mu m$)	30 m x 0,32 mm I.D.	SGE Analytical Science Pty Ltd (Ringwood Victoria, Australien)

5.6.3 Untersuchung der PSM-Formulierungen und APEO mittels GC-MS

Eine universelle Methode, die sowohl für die Identifikation der Pestizide als auch der APEO in den PSM-Formulierungen diene, ist der **Tabelle 5.22** zu entnehmen. Diese GC-MS-Methode wurde ferner zur Untersuchung der verwendeten technischen APEO-Produkte, der aus den PSM isolierten APEO-Fractionen (s. **Abs. 5.4.3**) und der aus den technischen APEO isolierten Ethoxymere (s. **Abs. 5.4.4**) verwendet.

Tabelle 5.22: Messparameter zur Untersuchung der PSM-Formulierungen und der APEO mittels GC-MS (Methode GC-MS 1).

GC-MS-System:	Shimadzu GCMS-QP2010S
Kapillarsäule:	DB-1 MS ($d_F = 0,25 \mu m$, $30 m \times 0,32 mm$ I.D.)
Trärgas:	Helium
Injektortemperatur:	250 °C
Injektion:	split 1:100 (für die Identifikation von Pestiziden) splitless (für die Identifikation von AP und APEO)
Injektionsvolumen:	1 μl
Temperaturprogramm:	60 °C für 2 <i>min</i> 60 °C \mapsto 300 °C mit $10 \text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}$ 300 °C für 5 <i>min</i>
Druck:	automatische Anpassung an Temperatur und linearer Strömungsgeschwindigkeit
lineare Strömungsgeschw.:	konstant mit $45 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$
Interfacetemperatur:	250 °C
Ionenquelle:	EI
Ionenquellentemperatur:	250 °C
Verzögerung Datenaquisition:	3 <i>min</i>
Massenbereich für Full-Scan:	m/z 50 bis m/z 1000
Scangeschwindigkeit:	$5000 \text{ amu} \cdot \text{s}^{-1}$
Ionen für SIM-Modus:	s. Tab. 5.24

In der Regel wurden alle Messungen im Full-Scan-Modus mit dem Shimadzu GCMS-QP2010S durchgeführt. Am Anfang der Arbeit stand jedoch lediglich das Shimadzu GCMS-QP5050A zur Verfügung, dass zur Untersuchung der APEO und zur Identifizierung der APEO-Ethoxymere diente. Die entsprechenden Messparameter sind in der **Tabelle 5.23** zu finden. Dieses System wurde in einigen Fällen auch später noch zu diesem Zweck verwendet, da aufgrund der verwendeten Kapillarsäule höhere Ofentemperaturen möglich waren.

Tabelle 5.23: Messparameter der alternativen Methode zur Untersuchung von APEO mittels GC-MS (Methode GC-MS 2).

GC-MS-System:	Shimadzu GCMS-QP5050A
Kapillarsäule:	SolGel-1 ms ($d_F = 0,25 \mu m$, $30 m \times 0,32 mm$ I.D.)
Trärgas:	Helium
Injektortemperatur:	300 °C
Injektion:	splitless (1 min)
Injektionsvolumen:	1 μl
Temperaturprogramm:	100 °C für 1 min 100 °C \mapsto 350 °C mit $10 \text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}$ 350 °C für 20 min
Druckprogramm:	26,9 kPa für 1 min 26,9 kPa \mapsto 80,7 kPa mit $2,2 \text{ kPa} \cdot \text{min}^{-1}$ 80,7 kPa für 20 min
lineare Strömungsgeschw.:	konstant $45 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$
Interfacetemperatur:	300 °C
Ionenquelle:	EI
Verzögerung Datenaquisition:	5 min
Massenbereich für Full-Scan:	m/z 50 bis m/z 920
Scangeschwindigkeit:	$4000 \text{ amu} \cdot \text{s}^{-1}$

Reichte die Empfindlichkeit der Massenspektrometer im Full-Scan-Modus für einen Nachweis der APEO nicht aus, wurden Messungen im SIM-Modus durchgeführt. Dazu wurden die in **Tabelle 5.24** angegebenen Ionen verwendet, die auch für die Auswertung des Totalionenstroms (TIC), der Massenspektren und für die rekonstruierten Ionenchromatogramme (RIC) herangezogen wurden.

Tabelle 5.24: Zur Identifikation von AP und APEO mittels GC-MS verwendete Ionen.

	4-NP	NPEO	4- <i>tert</i> -OP	OPEO
m/z 107	$^+\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$	$^+\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$	$^+\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$	$^+\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$
m/z 121	$[\text{M} - \text{C}_7\text{H}_{15}]^+$	$\text{H}_3\text{C-}^+\text{CH-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$	$[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–
m/z 135	$[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	$(\text{H}_3\text{C})_2^+\text{CH-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$
m/z 149	$[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–	–
m/z 163	$[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_9]^+$	–	–	–
m/z 177	$[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_7]^+$	–	–	–
m/z 179	–	$[\text{NP}(\text{EO})_1 - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{OP}(\text{EO})_1 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 191	$[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$	–	$[\text{M} - \text{CH}_3]^+$	–
m/z 193	–	$[\text{NP}(\text{EO})_1 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–
m/z 206	–	–	$\text{M}^{+\bullet}$	–
m/z 220	$\text{M}^{+\bullet}$	–	–	–
m/z 223	–	$[\text{NP}(\text{EO})_2 - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{OP}(\text{EO})_2 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 237	–	$[\text{NP}(\text{EO})_2 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–
m/z 267	–	$[\text{NP}(\text{EO})_3 - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{OP}(\text{EO})_3 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 281	–	$[\text{NP}(\text{EO})_3 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–
m/z 311	–	$[\text{NP}(\text{EO})_4 - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{OP}(\text{EO})_4 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 325	–	$[\text{NP}(\text{EO})_4 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–
m/z 355	–	$[\text{NP}(\text{EO})_5 - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{OP}(\text{EO})_5 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 369	–	$[\text{NP}(\text{EO})_5 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–
m/z 399	–	$[\text{NP}(\text{EO})_6 - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$	–	$[\text{OP}(\text{EO})_6 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 413	–	$[\text{NP}(\text{EO})_6 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$	–	–
m/z 443	–	–	–	$[\text{OP}(\text{EO})_7 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$
m/z 487	–	–	–	$[\text{OP}(\text{EO})_8 - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$

5.7 Flugzeitmassenspektrometrie

5.7.1 Konfiguration des verwendeten Flugzeitmassenspektrometers

Zur Charakterisierung der APEO-Standards sowie zur Identifizierung der Tenside in den untersuchten PSM wurden Massenspektren mit dem Flugzeitmassenspektrometer GSG future MALDI-TOF MS der Fa. GSG Mess- und Analysengeräte GmbH (Bruchsal) aufgezeichnet, das über einen Massenbereich von m/z 20 bis größer m/z 500000 verfügte. Die matrixunterstützte Laser-Desorption und Ionisation der Probe erfolgte von einer goldbe-

schichteten Probensonde mit Hilfe eines N_2 -Lasers, der mit Laserimpulsen von 3 ns und einer Wellenlänge von 337 nm mit einer maximalen Energie von $150\text{ }\mu\text{J}$ arbeitete. Die Steuerung und Datenauswertung des MALDI-ToFMS-Systems erfolgte mittels G2025A Software A.03.00 der Fa. Hewlett-Packard Co. (Palo Alto, Kalifornien, USA). Das System war zusätzlich mit einem Probenvorbereitungsgerät ausgestattet, das eine Vorbereitung der Probensonde mit Hilfe der vakuuminduzierten Proben/Matrix-Kokristallisationstechnik ermöglichte und über ein Okular mit siebenfacher Vergrößerung zur Überwachung des Kristallisationsprozesses verfügte.

5.7.2 Durchführung der Analysen mittels MALDI-ToF-MS

Wenn nichts anderes angegeben ist, wurde bei den Analysen 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) als Matrix verwendet. Eine Lösung von ca. $40\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ($6,10\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) DHB in Ethanol wurde mit dem gleichen Volumen der jeweiligen ethanolischen APEO-Referenzlösung (ca. $4\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) gemischt, so dass sich ein Matrix-zu-Analyt-Stoffmengenverhältnis von 10:1 ergab. Die DHB-Lösung wurde für die Analyse der PSM ebenfalls im Verhältnis 1:1 mit ethanolischen Lösungen der PSM (je nach Konzentration der APEO $0,5\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ bis $7,0\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) bzw. den Ethanolextrakten der PSM (s. **Abs. 5.4.2.4**) sowie den mittels RPLC (s. **Abs. 5.4.3**) isolierten OPEO- und NPEO-Fraktionen der PSM-Formulierungen gemischt.

Von den auf diese Weise hergestellten Lösungen wurde $1\text{ }\mu\text{l}$ mit Hilfe einer $1\text{--}20\text{ }\mu\text{l}$ -Kolbenhubpipette Pipetman der Fa. Gilson Inc. (Middleton, Wisconsin, USA) und Comfotips[®] Cristal $0,5\text{--}10\text{ }\mu\text{l}$ der Fa. Eppendorf AG (Hamburg) auf die Probensonde aufgebracht und im Vakuum zur Kristallisation gebracht. Der Vorgang wurde für jeden Sektor der Probensonde viermal wiederholt, so dass auf diese Weise insgesamt $5\text{ }\mu\text{l}$ einer Probenlösung auf je einen Sektor aufgebracht wurden. Nach dem Einlassen der Probensonde in das MALDI-ToF-MS-System wurden für jeden der 10 Sektoren in Abhängigkeit von der Konzentration der APEO in der Matrix akkumulierte Massenspektren im positiven Ionisationsmodus von 250 bis 1000 einzelnen Laserimpulsen mit einer Energie von $9\text{ }\mu\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ bis $14\text{ }\mu\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ aufgezeichnet.

5.8 UV/VIS-Absorptions- und Fluoreszenzspektrometrie

5.8.1 UV/VIS-Absorptionsspektrometrie

Für die Aufzeichnung von UV/VIS-Absorptionsspektren der APEO sowie zur Durchführung von Absorptionsmessungen von APEO-Lösungen wurden Zweistrahlsspektrophotometer verwendet. Entweder wurde das UV/VIS-Spektrophotometer Lambda 5 und die Software UV WinLab der Fa. PerkinElmer (Waltham, Massachusetts, USA) oder das UV/VIS-Spektrophotometer UV-1650 PC sowie die Software UV-Probe der Fa. Shimadzu (Kyoto, Japan) verwendet. Alle Absorptionsmessungen wurden in ethanolischer oder methanolischer Lösung sowie in Lösungen von *n*-Hexan / Ethanol 4:1 (*v/v*) in 3500- μ l-Quarzglasmakroküvetten der Fa. Hellma GmbH & Co. KG (Müllheim) mit einer Schichtdicke von 10 mm gegen die reinen Lösemittel als Referenz durchgeführt. Die jeweiligen Messparameter sind der **Tabelle 5.25** zu entnehmen.

Tabelle 5.25: Messparameter für die Absorptionsmessungen mittels Zweistrahlsspektrophotometer.

Parameter	Lambda 5	UV-1650 PC
Schichtdicke	10 mm	10 mm
Spaltbreite	1 nm	2 nm
Scanbereich	190 nm–350 nm	200 nm–450 nm
Intervall	1 nm	1 nm
Scangeschwindigkeit	120 nm · min ⁻¹	mittel

5.8.2 Fluoreszenzspektrometrie

Anregungsspektren und Emissionsspektren sowie Fluoreszenzmessungen wurden mit dem Lumineszenzspektrometer LS 50 B und der Software FL WinLab der Fa. PerkinElmer (Waltham, Massachusetts, USA) oder dem Spektrofluorophotometer RF-5301 PC sowie der Software LabCognition Panorama Fluorescence 1.1 der Fa. Shimadzu (Kyoto, Japan) in 3500- μ l-Makroküvetten (10 mm x 10 mm) der Fa. Hellma GmbH & Co. KG (Müllheim) in ethanolischer oder methanolischer Lösung durchgeführt. 3D-Fullscanspektren wurden nur mittels Spektrofluorophotometer RF-5301 PC aufgezeichnet. Die jeweiligen Messparameter sind der **Tabelle 5.26** zu entnehmen.

Tabelle 5.26: Messparameter für die Fluoreszenzmessungen und die Aufzeichnung von Anregungs- und Emissionsspektren.

Parameter	LS 50 B	RF-5301 PC
Küvette	10 mm x 10 mm	10 mm x 10 mm
Anregungsspaltbreite	15 nm	5 nm
Emissionsspaltbreite	15 nm	3 nm
Scanbereich	190 nm–350 nm	220 nm–450 nm
Intervall	1 nm	1 nm
Scangeschwindigkeit	100 nm · min ⁻¹	schnell

5.9 Elementaranalyse von Alkylphenoethoxylaten

5.9.1 Grundlage des Verfahrens

Zur elementaranalytischen Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff wurde der Elementaranalysator Euro EA der Fa. HEKAtech GmbH (Wegberg) verwendet, der mit einem EuroCap 20 Probenhalter ausgestattet war. Dabei handelt es sich um ein vollautomatisches System, das auf dem Prinzip der trockenen Verbrennung basiert. Die Probe, die sich in einer Zinnkapsel befindet, wird in einem Reaktionsofen in Sauerstoff oxidiert. Dabei werden durch die exotherme Oxidation der Zinnkapsel Oxidationstemperaturen von ca. 1000 °C erreicht. Die vollständige Oxidation wird durch einen anschließenden Wolframtrioxidkatalysator garantiert. Die Oxidationsprodukte CO₂, H₂O, SO₂ und NO_x sowie überschüssiger Sauerstoff werden durch eine Kolonne mit Kupfer geleitet, so dass der Restsauerstoff gebunden wird und die Stickoxide zu Stickstoff reduziert werden. Die Gasmischung wird dann gaschromatographisch mit Helium als Trägergas getrennt und die Analytgasen werden mit Hilfe eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors nachgewiesen und quantifiziert.

5.9.2 Durchführung der Elementaranalyse

Zur Bestimmung von C und H wurden jeweils 10 mg bis 100 mg der NPEO bzw. OPEO in einer Zinnkapsel für Flüssigkeiten (12 mm x 5 mm I.D.) eingewogen und in Anlehnung an DIN 51732 [103] analysiert. Für jede Probe wurde dabei eine Fünffachbestimmung durchgeführt. Da lediglich C und H bestimmt wurden, erfolgte die Kalibrierung des Elementaranalysators mit Hilfe von geeigneten Mengen Benzoesäure (68,85 % C, 4,95 % H, 26,2 % O). Zur Blindwertbestimmung wurden leere Zinnkapseln eingesetzt, die Kalibration wurde mit Hilfe von Saccharose (42,10 % C, 6,48 % H, 51,41 % O) überprüft.

Kapitel 6

Ergebnisse und Diskussion

6.1 Extraktionsmethoden

6.1.1 Ermittlung des Formulierungstyps anhand von Löslichkeitsversuchen und Auswahl der Extraktionsmethoden

Die Auswahl geeigneter Extraktionsmethoden zur APEO-Bestimmung in PSM hängt hauptsächlich von drei Faktoren ab, von der Art der Formulierung, von den Eigenschaften des zur Formulierung verwendeten APEO-Gemisches und von der Art und den Eigenschaften der übrigen Bestandteile. Der Formulierungstyp kann einige Extraktionsverfahren grundsätzlich ausschließen, während von den Eigenschaften der APEO, insbesondere vom Ethoxylierungsgrad, die erreichbaren Extraktionsausbeuten abhängen. Diese hängen ebenfalls von den übrigen Bestandteilen ab. Außerdem können ebenfalls extrahierte Bestandteile der Formulierung die spätere Analyse stören.

Ein wichtiges Kriterium bei der Vorauswahl der Extraktionsverfahren stellt die Löslichkeit in verschiedenen polaren Lösemitteln dar. Daher wurden zunächst Löslichkeitsversuche mit Wasser, Ethanol, Acetonitril, Dichlormethan und *n*-Hexan durchgeführt. Sie dienten auch zur Ermittlung des Formulierungstyps. Da Pflanzenschutzmittel in der Regel in Form von wasserbasierenden Sprühlösungen ausgebracht werden, sind PSM entweder wasserlöslich oder in Wasser emulgierbar bzw. suspendierbar. Der Formulierungstyp hängt im Wesentlichen von den physikalischen und chemischen Eigenschaften der Wirksubstanz ab [357]. Daher werden flüssige Pestizide und in Kohlenwasserstoffe lösliche feste Pestizide entweder in Form von emulgierbaren Konzentraten (EC) oder konzentrierten Emulsionen (EW) formuliert, während feste Wirkstoffe entweder als wasserlösliche Konzentrate, wasserlösliche Pulver (SP) sowie wasserlösliche Granulate (SG) erhältlich sind oder im Fall von wasserunlöslichen Pestiziden in Form von Suspensionskonzentraten (SC), wasser-

dispergierbaren Pulvern (WP) oder wasserdispergierbaren Granulaten (WG) angeboten werden (s. **Abb. 2.5**, S. 25).

Die Löslichkeitsversuche mit Wasser haben ergeben, dass keines der zehn untersuchten PSM vollständig wasserlöslich war, alle PSM bildeten entweder Emulsionen, Suspensionen oder Dispersionen, so dass es sich bei den in Form von Granulaten vorliegenden Proben PSM 1, PSM 2 und PSM 9 daher um WG handelte. Für die Analyse dieser festen Proben ist es sicherlich nicht sinnvoll und auch nicht möglich diese vollständig in Lösung zu bringen. Hier bietet sich grundsetzlich eine Fest-Flüssig-Extraktion an, um die APEO von dem Großteil der Matrix abzutrennen. Dasselbe gilt für die untersuchten Waschmittel.

Für die PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8, bei denen es sich um klare, ölartige Flüssigkeiten handelte, folgte aus den Löslichkeitsversuchen mit Wasser, dass es sich um EC handelte. Diese waren ferner alle sehr gut in Ethanol, Acetonitril und Dichlormethan mit Konzentrationen von mindestens $10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ löslich, jedoch nicht vollständig in *n*-Hexan. Diese Proben konnten daher auch ohne vorherige Extraktion direkt mittels HPLC untersucht werden. Sie sind ferner für ein Clean-Up mittels der Festphasenextraktion zugänglich. Dahingegen waren die untersuchten Öle nicht vollständig in Ethanol löslich, jedoch in *n*-Hexan und Dichlormethan. Bei den PSM 6 und PSM 9 handelte es sich um Suspensionskonzentrate, bei denen sich die flüssigen von den festen Bestandteilen mittels Ethanol abtrennen ließen. Für alle PSM wurde alternativ eine Extraktion nach Wickbold in Betracht gezogen, da es sich hierbei um eine etablierte Methode zur selektiven Extraktion von oberflächenaktiven Stoffen aus Wasser handelt und alle PSM in Wasser emulgierbar, suspensierbar bzw. dispergierbar waren. Die Flüssig-Flüssig-Extraktion unter Verwendung einer wässrigen und einer mit Wasser nicht mischbaren organischen Phase stellt ebenfalls eine gute Alternative für solche Proben dar, ebenso ist sie für die untersuchten Reinigungsmittel sicherlich geeignet.

6.1.2 Extraktion nach Wickbold

Bei der Tensidextraktion durch Ausblasen der Tenside mit Stickstoff in Ethylacetat aus Wasser handelt es sich um eine etablierte Methode, die auf Arbeiten von R. Wickbold [402] zurückgeht und Teil von normierten Verfahren ist [20,99]. Sie beruht darauf, dass sich während des Extraktionsprozesses die oberflächenaktiven Stoffe an der Wasser/Gasgrenzfläche der Gasblasen bei Durchströmen der Extraktionsapparatur (s. **Abb. 5.1** S. 108) mit N_2 anreichern und mit diesen in die organische Oberphase transportiert werden. Der Zusatz von Salzen wie NaCl und NaHCO_3 hat sich dabei bewährt. Diese Methode ist für die Tensidextraktion aus Wasserproben konzipiert und für die Isolierung von APEO aus solchen Proben geeignet [4, 117, 143, 180, 319, 340].

Für die Isolierung von APEO aus PSM-Formulierungen mußte insofern eine Anpassung erfolgen, als dass es sich bei den untersuchten PSM-Zubereitungen um keine Proben in wässriger Phase handelte. Da PSM in der Regel für die Ausbringung in wässrigen Sprühlösungen formuliert sind, sind PSM entweder wasserlöslich oder in Wasser emulgierbar bzw. suspendierbar und somit einer Extraktion nach Wickbold zugänglich.

Der Vorteil dieser Methode ist ganz klar darin zu sehen, dass sie für Tenside selektiv ist.

Allerdings ist ein sehr großer Nachteil der Extraktionsmethode nach Wickbold der große Arbeitsaufwand, was diese Methode für Routinemessungen bei Screeningverfahren für PSM unattraktiv erscheinen läßt. Daher wurde diese Methode nicht für alle Proben angewendet. Sie diente zur Extraktion der wasserdispergierbaren Granulate PSM 1, PSM 2 und PSM 9 sowie der Suspensionskonzentrate PSM 6 und PSM 10.

Um die Extraktionsausbeuten für die Extraktionsmethode nach Wickbold abschätzen zu können, wurde zunächst ein NPEO-Standard aus wässriger Lösung extrahiert. Es wurden $100\ \mu\text{l}$ einer Lösung von $2,234\ \text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 100 in Ethanol in die wässrige Extraktionslösung gegeben und dreimal in je $20\ \text{ml}$ Ethylacetat extrahiert (s. **Abs. 5.4.2.1**). Die drei Ethylacetatphasen wurden jeweils getrennt voneinander behandelt. Nachdem diese vom Wasser befreit und bis zur Trockene eingengt wurden, wurde in je $10\ \text{ml}$ Ethanol aufgenommen und mittels RPLC-UVD (RPLC 1, s. **Abs. 5.5.4.1**) analysiert. Von den insgesamt $223\ \mu\text{g}$ NPEO, die in die wässrige Lösung gegeben worden waren, wurden im ersten Extraktionsschritt $(141 \pm 3)\ \mu\text{g}$, im zweiten $(47 \pm 3)\ \mu\text{g}$ und im dritten $(11 \pm 3)\ \mu\text{g}$ extrahiert. Das ist eine Gesamtextraktionsausbeute von $(199 \pm 3)\ \mu\text{g}$ NPEO, was einer Wiederfindung von 89 % entspricht. Um noch höhere Extraktionsausbeuten zu erzielen, wurden alle nachfolgenden Proben viermal mit jeweils $20\ \text{ml}$ Ethylacetat als Oberphase extrahiert. Es zeigte sich aber, dass diese Maßnahme zu keiner weiteren Verbesserung der Ausbeuten führte. Aus drei unabhängig durchgeführten Extraktionen derselben Lösung ergab sich eine mittlere Wiederfindung von $86 \pm 5\%$. Die ermittelten Wiederfindungsraten entsprechen den veröffentlichten Werten anderer Arbeitsgruppen. So konnte beispielsweise für wässrige Lösungen von $1\ \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ Marlophen 810 mit der Wickbold-Methode eine Gesamtwiederfindung von 87,4 % erzielt werden, wobei für die Oligomere $\text{NP}(\text{EO})_3$ bis $\text{NP}(\text{EO})_{11}$ nahezu 100 % wiedergefunden wurden [4]. In einer weiteren Untersuchung konnten Wiederfindungsraten für $\text{NP}(\text{EO})_3$ bis $\text{NP}(\text{EO})_{13}$ von über 80 % sowie für $\text{NP}(\text{EO})_1 > 60\%$ und für $\text{NP}(\text{EO})_2 > 77\%$ erzielt werden [319]. Die Wiederfindungsraten sollen dabei von der APEO-Konzentration in der Probe abhängen und sind mit steigendem Gehalt höher.

Um zu überprüfen, ob es zur einer, wie in der Literatur [4, 319] beschriebenen Diskriminierung einzelner Ethoxymere kommt, wurde zusätzlich zu den wasserdispergierba-

ren Granulaten und Suspensionskonzentraten eine ethanollösliche Realprobe untersucht, für die die Ethoxymerenverteilung auch direkt in Lösung mittels NPLC-FLD bestimmt werden konnte. Anhand der in **Abb. 6.1** dargestellten, mittels NPLC-FLD ermittelten Ethoxymerenverteilung von PSM 3 ohne und nach Wickbold-Extraktion läßt sich allerdings kein eindeutiger Trend beobachten. Im Gegensatz zu den Literaturangaben konnte keine Dikriminierung der kürzerkettigen NPEO beobachtet werden.

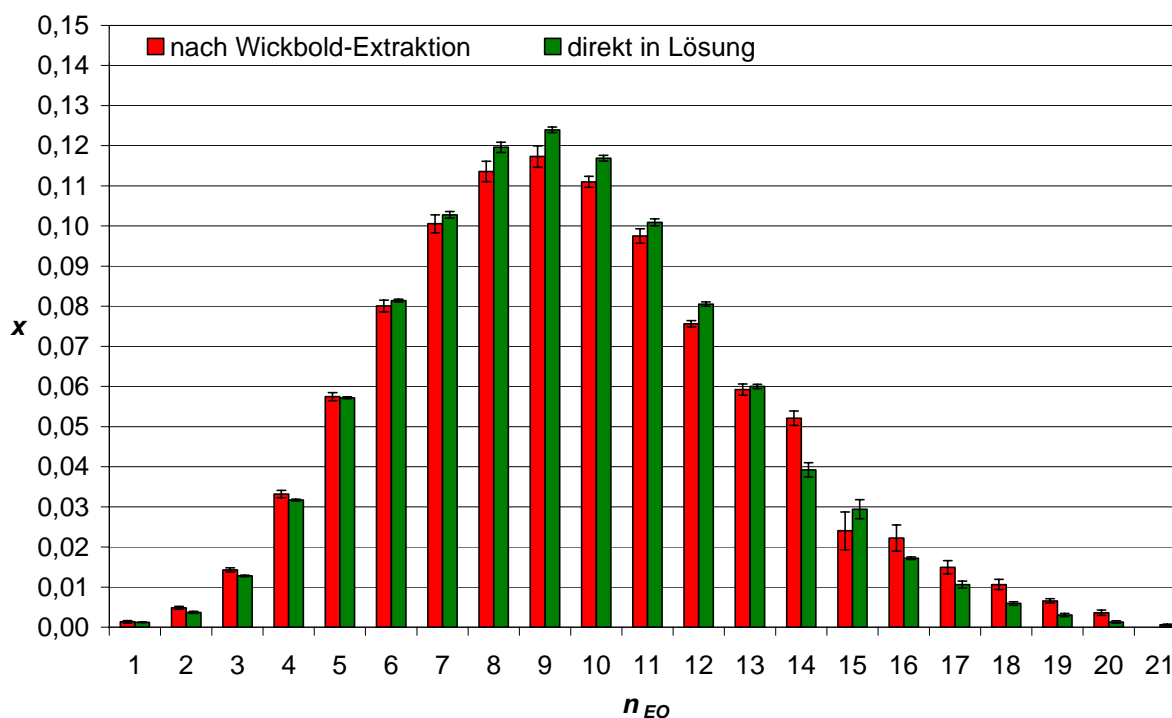


Abbildung 6.1: Ethoxymerenverteilung von NPEO vor und nach der Wickbold-Extraktion von PSM 3].

Mit Hilfe der Extraktion nach Wickbold und anschließender Bestimmung der APEO mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $\lambda = 277 \text{ nm}$) wurden $(0,09 \pm 0,01) \% (w/w)$ OPEO in PSM 2, $(13,2 \pm 0,6) \% (w/w)$ NPEO in PSM 3, $(0,38 \pm 0,01) \% (w/w)$ NPEO in PSM 6 und $(0,315 \pm 0,005) \% (w/w)$ OPEO in PSM 9 bestimmt. In PSM 1 und PSM 10 wurden keine APEO nachgewiesen. Die Kalibrierung des variablen Wellenlängendetektors erfolgte dabei extern mit Kalibrierlösungen von Arkopal O 100 und Triton X-100 für PSM 2 und PSM 9 sowie mit Kalibrierlösungen von Arkopal N 100 und Marlophen NP 9 für PSM 3 und PSM 6.

6.1.3 Festphasenextraktion

Schreuder und Martijn [323] haben eine SPE-Methode beschrieben, mit deren Hilfe sie aus synthetischen PSM mittels Kieselgel APEO isoliert haben. Diese PSM bestanden aus verschiedenen polaren Pestiziden, anionischen Tensiden, verschiedenen Lösemitteln und NPEO oder OPEO. Sie konnten teilweise sehr gute Wiederfindungsraten, die zwischen 92,4 % und 112,2 % lagen, erreichen. Die Untersuchungen beschränkten sich aber lediglich auf NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 8,5$ und OPEO mit $\bar{n}_{EO} = 8,5$. Ausgehend von diesen Erkenntnissen war es Ziel dieser Arbeit, die SPE auf eine breitere Basis zu stellen, d.h. den Bereich der untersuchten APEO bezüglich des Ethoxylierungsgrades zu erweitern. Ferner sollten die Einflüsse von weiteren, für PSM charakteristischen Matrixbestandteilen untersucht werden. Solche Bestandteile können z. B. pflanzliche Öle sein.

Zunächst wurden die Elutionsprofile verschiedener APEO nach deren Anreicherung auf Kieselgel untersucht. Für diese Untersuchungen wurden APEO, die aufgrund unterschiedlicher Ethoxylierungsgrade und Alkylgruppen sehr unterschiedliche physikochemische Eigenschaften aufwiesen, verwendet. Dabei fanden Marlophen NP 3 (NPEO, $\bar{n}_{EO} = 2,87$), Arkopal N 100 (NPEO, $\bar{n}_{EO} = 9,5$), Arkopal O 100 (OPEO, $\bar{n}_{EO} = 9,14$) und Arkopal N 200 (NPEO, $\bar{n}_{EO} = 16,8$) Verwendung, von denen jeweils Lösungen von $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ APEO in Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (*v/v*) auf eine mit 1000 mg Kieselgel gefüllte 6-ml -SPE-Säule aufgegeben wurden und in Anlehnung an die von Schreuder und Martijn [323] beschriebene Methode wieder eluiert wurden. Die genaue Durchführung ist **Abs. 5.4.2.2** zu entnehmen. Es wurden alle Verfahrensschritte einer Überprüfung unterzogen und darauf die Wasch- und Elutionsschritte für APEO mit einem sehr breiten Bereich des Ethoxylierungsgrades optimiert.

Am Anfang wurden mit Hilfe einer Lösung von $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Marlophen NP 3 und $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 100 die einzelnen in **Tab. 6.1** angegebenen Verfahrensschritte untersucht, indem die Lösemittel nach jedem Verfahrensschritt gesammelt wurden und der NPEO-Gehalt mittels RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 2, $\lambda = 277 \text{ nm}$) bestimmt wurde. Während bis nach dem zweiten Waschschrift Verluste von insgesamt weniger als 1 % zu verzeichnen waren, die für das Verfahren vernachlässigbar sind, war der 3. Waschschrift mit deutlichen Verlusten von über 5 % auffällig. Der zweite Elutionsschritt mit 5 ml Methanol führte zu keiner Steigerung der Wiederfindung ($< 1 \%$) und konnte daher für die untersuchten NPEO entfallen. Die Gesamtverluste beliefen sich auf lediglich 10 % und könnten durch Streichen des 3. Waschschrifts mehr als halbiert werden.

Tabelle 6.1: Untersuchung der durchgeführten Verfahrensschritte zur Festphasenextraktion von APEO mit Kieselgel anhand der Wiederfindung von 0,5 mg Marlophen NP 3 und 0,5 mg Arkopal N 100.

Verfahrensschritt	Lösemittel und Volumen	Wiederfindung / %
Konditionierung	5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v)	nicht nachweisbar
Aufgabe der Probe	5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v)	nicht nachweisbar
Standardisierung	2 x 1 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v)	nicht nachweisbar
1. Waschen	5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v)	$0,22 \pm 0,06$
2. Waschen	5 ml Dichlormethan	$0,68 \pm 0,15$
3. Waschen	5 ml Dichlormethan / Methanol 99:1 (v/v)	$5,27 \pm 0,23$
1. Elution	5 ml Methanol	$89,85 \pm 0,41$
2. Elution	5 ml Methanol	$0,92 \pm 0,15$
Summe		$96,94 \pm 1,00$

Eine vergleichende Untersuchung mit Lösungen von $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 100 (NPEO) und $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal O 100 (OPEO) in analoger Weise zeigten für diese beiden APEO lediglich Verluste von $0,13 \pm 0,01 \%$ NPEO und $0,24 \pm 0,01 \%$ OPEO für den 3. Waschschr. Im 1. Elutionsschritt mit Methanol wurden $94 \pm 1\%$ NPEO und $97 \pm 1\%$ OPEO eluiert. Daher waren die Verluste bei der ersten Versuchsreihe während des 3. Waschschr. mit Dichlormethan / Methanol 99:1 (v/v) auf Verluste der weniger polaren NPEO mit kürzerer Polyoxyethylengruppe (Marlophen NP 3) zurückzuführen. Auch die weniger stark ausgeprägten Unterschiede zwischen Arkopal N 100 und Arkopal O 100 waren auf unterschiedliche Polaritäten zurückzuführen. Die einzelnen Verfahrensschritte, insbesondere das Waschen mit Lösemittelgemischen mit ansteigender Polarität und die Elution der APEO, sind sehr stark abhängig vom Ethoxyierungsgrad, aber auch von der Alkylgruppe.

Ein noch genaueres Bild konnte durch die Untersuchung von Marlophen NP 3 und Arkopal N 200, zwei NPEO-Produkten mit sehr weit auseinanderliegenden mittleren Ethoxyierungsgraden, erlangt werden. Es wurde wie in **Tab. 6.1** beschrieben verfahren, außer dass an Stelle von 5 ml Methanol fünf mal 1 ml Methanol zur Elution benutzt wurden. Die in **Abb. 6.2** dargestellten Elutionsprofile zeigen einerseits, dass für Marlophen NP 3, dem NPEO mit sehr kurzer mittlerer Polyoxyethylenkette ($\bar{n}_{EO} = 2,87$), die Polarität von Dichlormethan / Methanol 99:1 (v/v) im 3. Waschschr. bereits ausreichte, um NPEO von der Kieselgelphase zu eluieren, während andererseits die Elution von Arkopal N 200, dem NPEO mit sehr hohem mittleren Ethoxyierungsgrad ($\bar{n}_{EO} = 16,8$), unvollständig blieb. Beim Waschschr. mit Dichlormethan / Methanol 99:1 (v/v) gingen $(7,05 \pm 0,01) \%$ Marlophen NP 3 verloren. Demgegenüber hatte dieser Waschschr. für Arkopal N 200 mit Verlusten von $(0,18 \pm 0,02) \%$ keinen Einfluss. Bei der anschließenden Desorption der

Analyten gelang die Elution von Marlophen NP 3 bereits mit 2 ml Methanol ($> 90\%$), wohingegen mit 5 ml Methanol lediglich (54 ± 1) % Arkopal N 200 eluiert wurden.

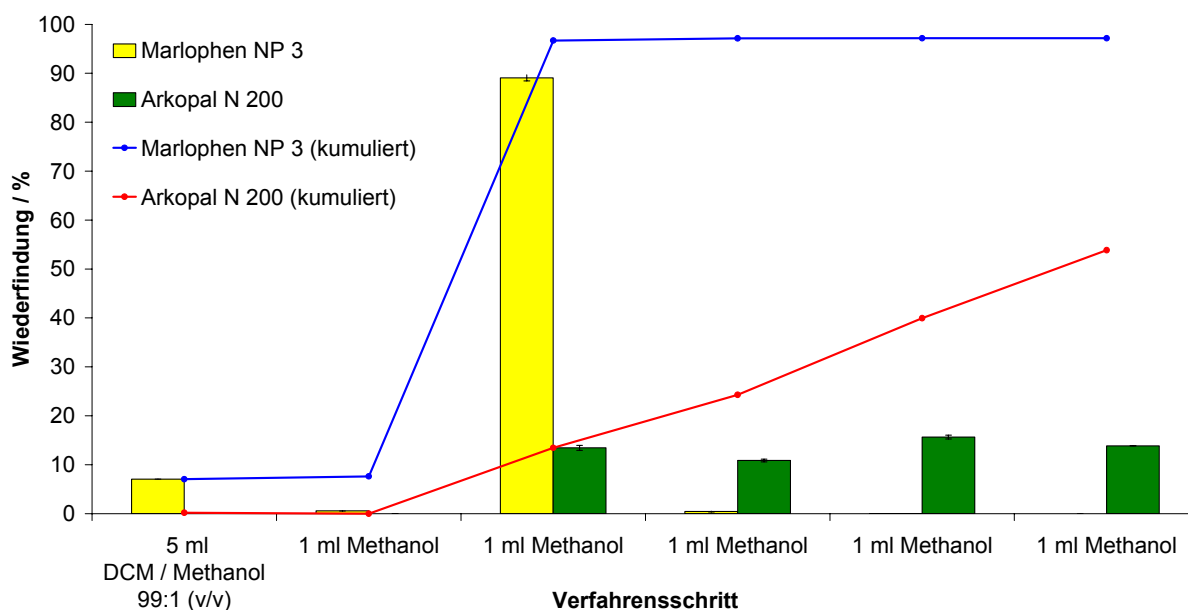


Abbildung 6.2: Elutionsprofil von Marlophen NP 3 und Arkopal N 200 nach SPE an Kieselgel. Nach der Sorption von jeweils 0,5 mg wurde vor den dargestellten Verfahrensschritten zunächst jeweils mit 2×1 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v), 5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v) und 5 ml Dichlormethan gewaschen (DCM: Dichlormethan).

Die Verluste von Marlophen NP 3 waren wohl primär auf die Elution von NP(EO)₁ bei dem Waschschriff mit Dichlormethan / Methanol 99:1 (v/v) zurückzuführen, so dass auf diesen Waschschriff für alle weiteren Untersuchungen verzichtet wurde. Aus den bisher dargelegten Ergebnisse folgt unmittelbar, dass eine Optimierung der Volumina der ersten beiden Waschschriffe speziell für die kurzkettigen Ethoxylate erfolgen sollte, während eine Optimierung der Analytelution im Hinblick auf APEO mit hohem Ethoxylierungsgrad erfolgen mußte. Daher wurden nachfolgend die Untersuchungen zur Optimierung der Waschschriffe mit Marlophen NP 3 durchgeführt, diejenigen zur Elution der APEO mit Arkopal N 200.

Um den Einfluß der beiden Waschschriffe mit Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v) und mit Dichlormethan näher zu untersuchen, wurden beide Schriffe nicht jeweils einfach mit 5 ml durchgeführt, sondern jeweils dreifach mit demselben Volumen von 5 ml. Wie **Abb. 6.3** zeigt, führte ein wiederholtes Waschen, also größere Waschvolumina, zu deutlich höheren Verlusten, da sowohl für Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v) als auch für Dichlormethan in den beiden Fraktionen von der 2. Wiederholung des Waschschriffs die größten Mengen NPEO gefunden wurden. Mit einer weiteren Steigerung der Volumina

von 10 ml auf 15 ml wurde allerdings bei beiden Waschschritten keine erhebliche Steigerung der Verluste mehr beobachtet. Es scheint so, dass die beiden unterschiedlich polaren Waschmittel unterschiedliche NPEO-Fractionen von der Kieselgelphase desorbieren. Eine Erhöhung der Waschvolumen ist nachteilig, da die Verluste an kurzkettigen NPEO deutlich ansteigen.

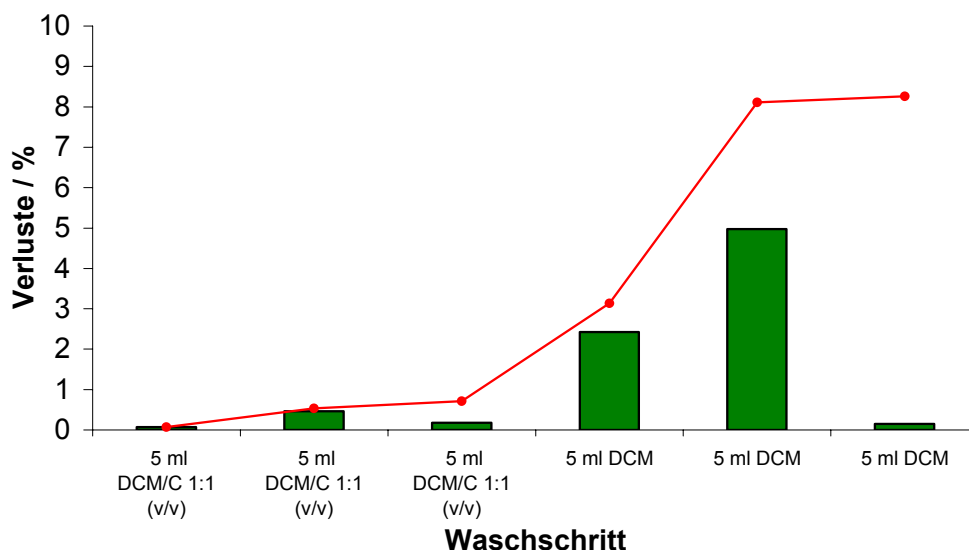


Abbildung 6.3: Verluste von Arkopal N 200 nach SPE an Kieselgel bei mehrfacher Wiederholung der Waschschrritte mit Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (*v/v*) und mit Dichlormethan. Nach der Sorption von jeweils 0,5 mg wurde jeweils dreifach mit je 5 ml der beiden Waschlösungen gewaschen (DCM: Dichlormethan, C: Cyclohexan).

Um die Elution der APEO mit höherem Ethoxyierungsgrad zu steigern, gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten, eine Steigerung der Polarität des Elutionsmittels und eine Vergrößerung des Elutionsmittelvolumens (s. **Abb. 6.4**). Eine Steigerung der Polarität des verwendeten Methanol ließ sich durch Zufügen von Wasser erreichen, wobei ab einem Wassergehalt von 5 % (*v/v*) nahezu 90 % der NPEO bereits mit 5 ml eluiert wurden. Eine Steigerung des Volumens auf 7 ml sorgte für die Elution von $(94,2 \pm 0,9)$ % der NPEO. Eine weitere Erhöhung des Elutionsvolumens oder des Wasseranteils war nicht mehr unbedingt wirtschaftlich vertretbar, da der höhere Zeitaufwand des Verfahrens durch Verlängerung der Zeit, die vor der Bestimmung mittels RPLC zum Entfernen des Elutionsmittels nötig ist, zugunsten einer nur geringfügigen Effektivitätssteigerungen der Elution nicht mehr gerechtfertigt wäre.

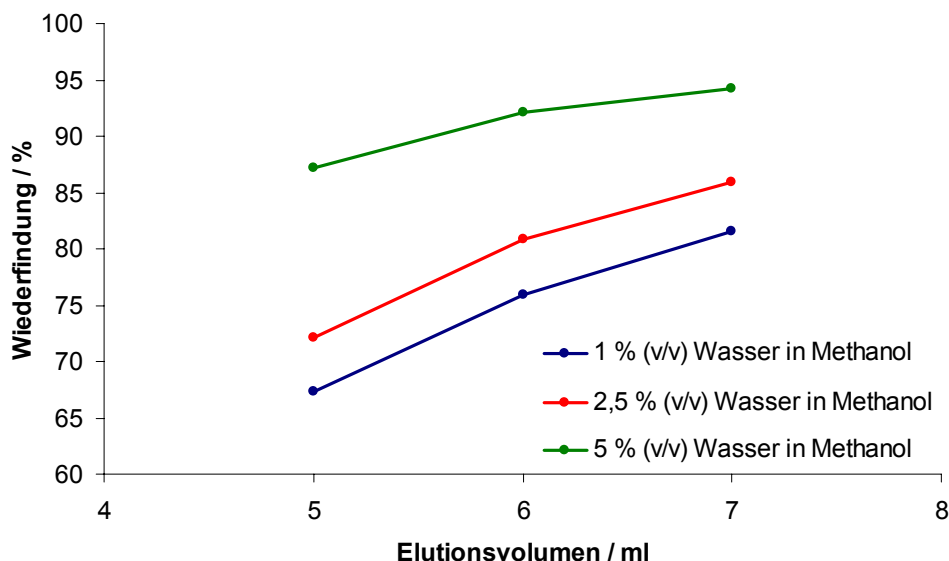


Abbildung 6.4: Wiederfindung von Arkopal N 200 nach SPE an Kieselgel mit steigendem Volumen und steigender Polarität des Elutionsmittels. Nach der Sorption von jeweils $0,5\text{ mg}$ wurden unterschiedliche Volumen und Wassergehalte des Elutionsmittels Methanol zur Desorption der NPEO verwendet.

Alle nachfolgenden Experimente und die Extraktion der PSM wurden wie folgt durchgeführt (s. a. **Tab. 5.12** S. 110):

Konditionierung mit 5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v),

Aufgabe der Probe in 5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v),

Standardisierung mit $2 \times 1\text{ ml}$ Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v),

Waschen mit 5 ml Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v),

Waschen mit 5 ml Dichlormethan und

Elution der APEO mit 7 ml Methanol / Wasser 95:5 (v/v)

Zur Überprüfung von Matrixeinflüssen wurden Lösungen verschiedener APEO mit verschiedenen pflanzlichen und synthetischen Ölen sowie dem Lösemittelgemisch Solvesso 150, bei dem es sich um ein kerosinhaltiges und aromatenhaltiges Produkt handelte, untersucht. Die Lösungen enthielten jeweils $0,1\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ APEO und $80\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ der Matrix. Daraus ergibt sich ein APEO-Gehalt in der Matrix von $0,125\%$ (w/w). Es wurden Lösungen von Rapsöl (ÖlP1) und Solvesso 150 jeweils mit Marlophen NP 3, Arkopal N 100, Arkopal N 200 und Arkopal O 100 sowie ohne APEO untersucht. Zusätzlich wurden jeweils Lösungen von Sojaöl (ÖlP2), Sonnenblumenöl (ÖlP5), Schmieröl (ÖlS9) und Silikonöl (ÖlS10) mit Arkopal N 100 und ohne APEO untersucht. Nach der SPE der Proben wurde der

APEO-Gehalt mittels RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 2, $\lambda = 227 \text{ nm}$) bestimmt. Die Detektion bei der weniger selektiven Wellenlänge von $\lambda = 227 \text{ nm}$ (s. **Abs. 6.5.2**) erfolgte, damit Matrixeffekte deutlicher erkannt wurden, da diese Wellenlänge eine höhere Empfindlichkeit gegenüber der Matrix aufwies.

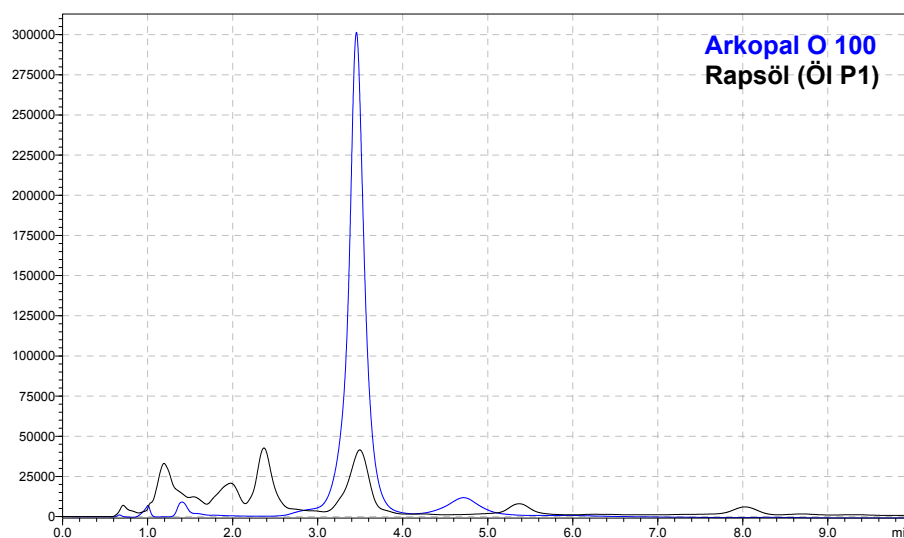


Abbildung 6.5: Falsch positiver Befund nach Festphasenextraktion einer Rapsölmatrix aufgrund von Matrixbestandteilen, die mit OPEO koeluieren. Bei den dargestellten Chromatogrammen der Bestimmung mittels RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 2, $\lambda = 227 \text{ nm}$) handelt es sich um Extrakte von 400 mg Rapsöl (Öl P1) und 0,5 mg Arkopal O 100. Für das Beispiel dieser Rapsölmatrix ergibt sich ein Blindwert von $(15 \pm 1) \text{ mg} \cdot \text{l}$ OPEO in dem untersuchten Rapsölextrakt, was einem Gehalt von $(0,019 \pm 0,001) \%$ bezogen auf Arkopal O 100 bei einer extrahierten Probenmenge von 400 mg entspricht.

Es wurden anhand der reinen Matrixlösungen Blindwerte für eine Festphasenextraktion von 400 mg Probe bestimmt. Es kann aufgrund koeluierender Matrixbestandteile zu falsch positiven Befunden kommen (s. **Abb. 6.5**). In der Regel waren aber die in den untersuchten Matrices ermittelten Blindwerte sehr gering. Sie lagen bezogen auf Arkopal N 100 in allen untersuchten Matrices unter $0,01 \%$ (w/w) (s. **Abb. 6.6**). Solvesso 150 ist in Bezug auf Blindwerte vollkommen unproblematisch, da nach SPE keine Matrixbestandteile mehr zu beobachten waren, die im Bereich der OPEO oder NPEO eluierten. Anders sah es für eine Rapsölmatrix aus, hier eluierten Matrixbestandteile, die nicht mittels SPE entfernt werden konnten, vor allem im Retentionszeitbereich der OPEO. Für die Extraktion von 400 mg Rapsöl bedeutete das ein falsch positives Ergebnis von $(0,019 \pm 0,001) \%$ (w/w) bezogen auf Arkopal O 100. Dieser Wert liegt jedoch deutlich unterhalb des EU-Grenzwertes von $0,1 \%$ (w/w) für PSM und ist daher als unkritisch zu sehen. Unter den NPEO war der Blindwert für Arkopal N 200 in der Rapsölmatrix mit $(0,0094 \pm 0,0005) \%$ (w/w) am

höchsten.

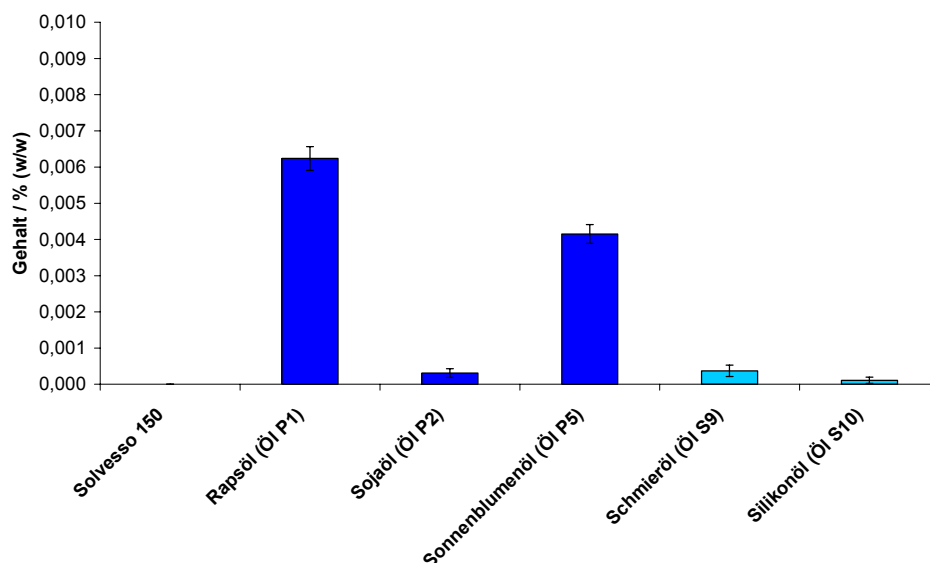


Abbildung 6.6: Blindwerte für verschiedene Matrices nach Festphasenextraktion. Es wurden jeweils 400 mg Probe extrahiert. Die Angaben der für die Blindwerte ermittelten Gehalte sind auf Arkopal N 100 bezogen. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Bestimmungen angegeben.

Wiederfindungsexperimente mit Hilfe von mit APEO aufgestockten Matrices haben für Solvesso 150 für alle untersuchten APEO sehr gute Wiederfindungsraten von $(96,8 \pm 0,4) \%$ bis $(100,9 \pm 0,4) \%$ ergeben (s. **Abb. 6.7**). Bei der Rapsölmatrix kam es nur bei der Bestimmung des OPEO-Tensids Arkopal O 100 zu signifikanten Überbefunden aufgrund der beschriebenen Matrixeinflüsse. Es wurde eine Wiederfindungsrate von $(117 \pm 3) \%$ OPEO bestimmt. Für die anderen APEO wurden Wiederfindungen von $(93 \pm 2) \%$ bis $(102,7 \pm 0,7) \%$ ermittelt (s. **Abb. 6.7**).

Es wurden noch weitere Matrices untersucht, die alle mit 0,125 % (w/w) Arkopal N 100 aufgestockt waren (s. **Abb. 6.8**). Hier wurden ebenfalls sehr gute Wiederfindungen erreicht. Die Abweichungen vom Istwert waren in der Regel deutlich kleiner als 5 %. Lediglich für das untersuchte Schmieröl und das Silikonöl waren diese über 5 %. Es wurden in diesen Matrices lediglich $(94,45 \pm 0,06) \%$ und $(93,9 \pm 0,3) \%$ NPEO wiedergefunden.

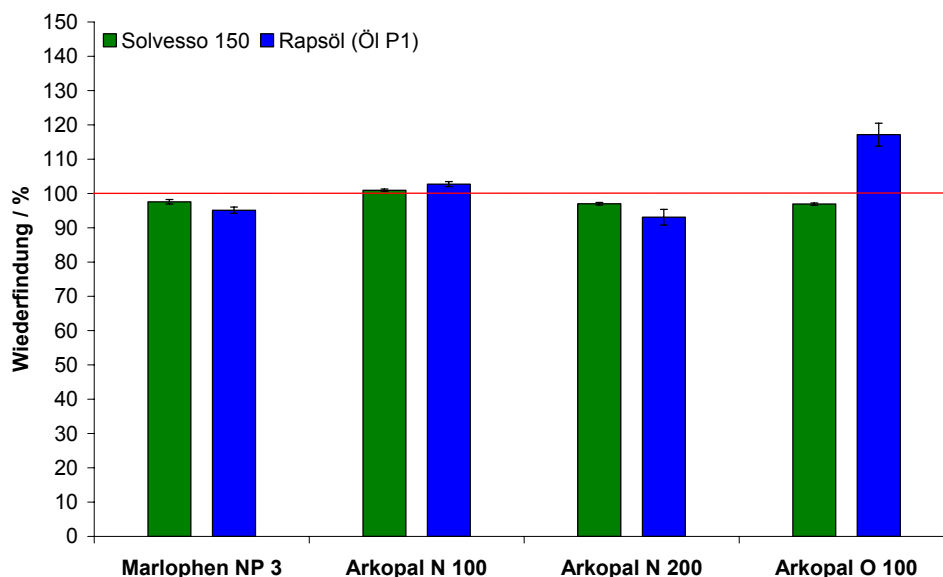


Abbildung 6.7: Wiederfindung verschiedener APEO nach Festphasenextraktion aus einer aromatenhaltigen Lösemittel- und einer Pflanzenölmatrix. Es wurden jeweils 400 mg Solvesso 150 und 400 mg Rapsöl (Öl P1), die beide jeweils mit $0,125\%$ (w/w) der unterschiedlichen APEO aufgestockt waren, extrahiert. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Bestimmungen angegeben.

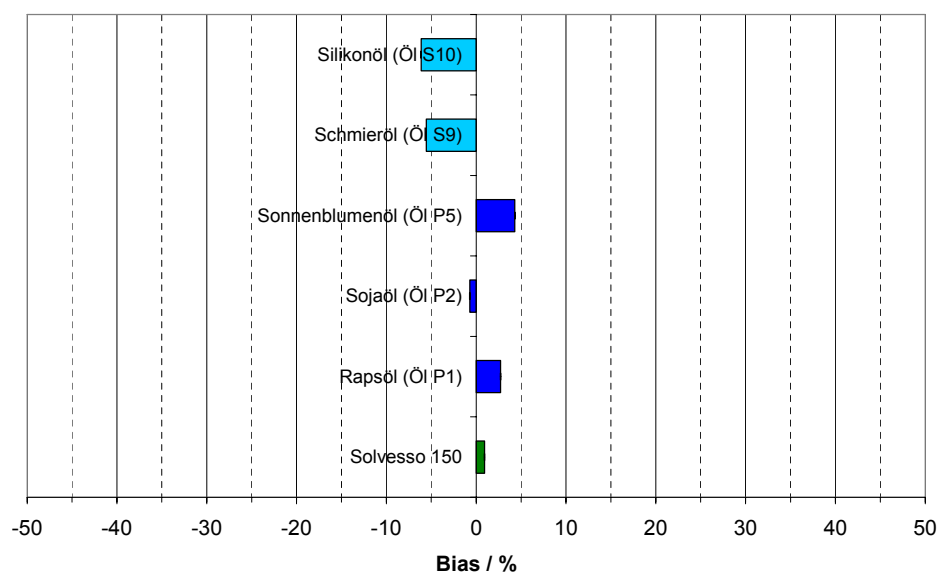


Abbildung 6.8: Mittlere Abweichungen der ermittelten NPEO-Konzentrationen in unterschiedlichen Matrices von den Istwerten nach Festphasenextraktion. Es wurden jeweils 400 mg Probe, die mit $0,125\%$ (w/w) Arkopal N 100 aufgestockt waren, extrahiert. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Bestimmungen angegeben.

Die anschließenden Bestimmungen der APEO in Realproben, den emulgierbaren Konzentraten PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8 wurden bei zwei verschiedenen Wellenlängen ($\lambda = 227 \text{ nm}$ und $\lambda = 277 \text{ nm}$) mittels RPLC 1 ebenfalls mit der Shimadzu-HPLC 2 durchgeführt. Es wurden jeweils 5 ml der Lösungen von $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM in Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (v/v) der SPE zugeführt, was einer absoluten Menge der PSM von 10 mg bis 100 mg entsprach. Die Bestimmung mittels UV-Detektors bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen eröffnete die Möglichkeit einer Abschätzung der Richtigkeit der ermittelten Ergebnisse, da bei beiden Wellenlängen die Empfindlichkeit sowohl für APEO als auch etwaige koeluierende Matrixbestandteile unterschiedlich ist (s. **Abs. 6.5.3**). Es wurden für die beiden unterschiedlichen Wellenlängen die in **Tab. 6.2** angegebenen NPEO-Gehalte für die PSM ermittelt.

Tabelle 6.2: Analysenergebnisse für die bei einer UV-Detektion bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ mittels RPLC 1 ermittelten NPEO-Gehalte in den emulgierbaren Konzentraten nach Festphasenextraktion. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Bestimmungen angegeben.

		Gehalt / % (w/w)		Abweichung / %
APEO-Typ		(UVD $\lambda = 227 \text{ nm}$)	(UVD $\lambda = 277 \text{ nm}$)	
PSM 3	NPEO	$16,3 \pm 0,5$	$13,2 \pm 0,1$	19,1
PSM 4	NPEO	$0,56 \pm 0,01$	$0,60 \pm 0,01$	7,1
PSM 5	NPEO	$0,31 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$	6,5
PSM 7	NPEO	$7,90 \pm 0,05$	$9,3 \pm 0,6$	17,5
PSM 8	NPEO	$4,81 \pm 0,02$	$5,04 \pm 0,05$	4,0

Die Kalibrierung des UV-Detektors bei beiden Wellenlängen erfolgte dabei extern mit Kalibrierlösungen von Arkopal N 040 und Marlophen NP 3 für PSM 4, PSM 5 und PSM 7 sowie mit Kalibrierlösungen von Arkopal N 100 und Marlophen NP 9 für PSM 3 und PSM 8. Es zeigten sich deutliche Abweichungen für die beiden emulgierbaren Konzentrate PSM 3 (19,1 %) und PSM 7 (17,5 %) (s. **Abb. 6.9**). Hier gelingt mit Hilfe der SPE offensichtlich nur eine ungenügende Trennung der Analyten von der Matrix, so dass die Quantifizierung stark fehlerbehaftet bleibt. Bei den anderen untersuchten PSM lagen die Abweichungen für die bei den beiden Wellenlängen bestimmten Gehalte $\leq 7,1 \%$, was eine akzeptable Größenordnung darstellt.

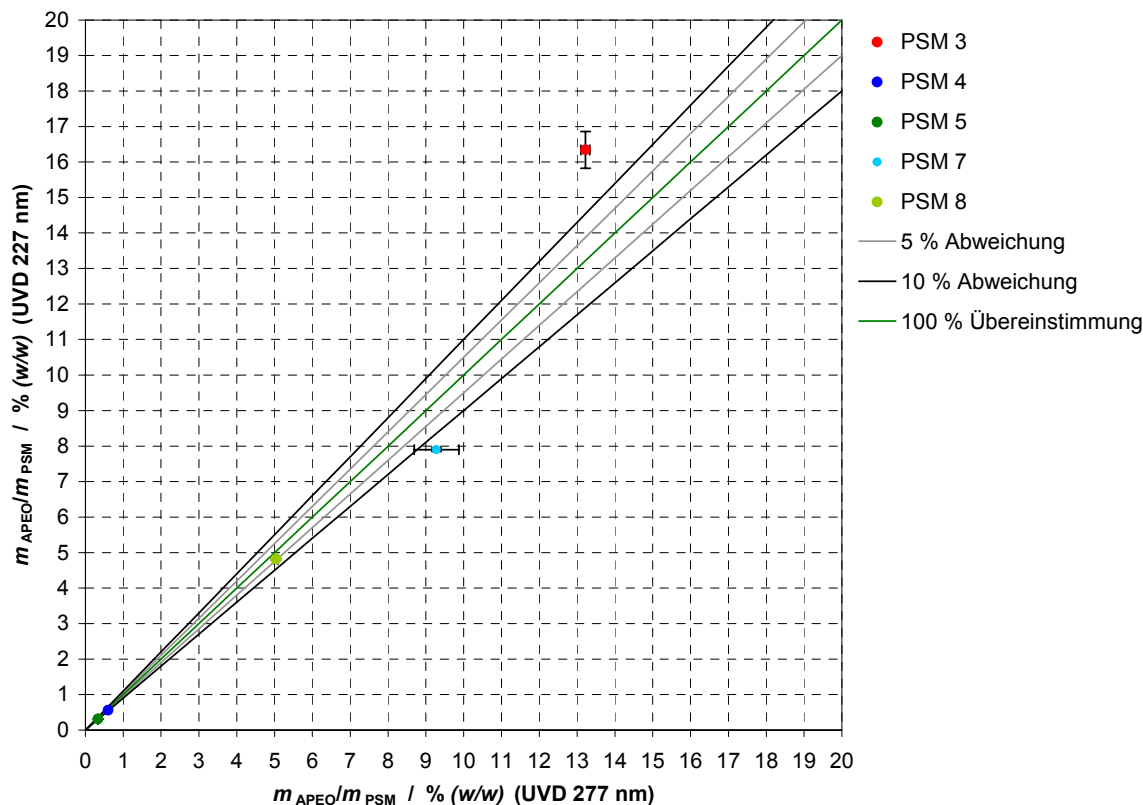


Abbildung 6.9: Vergleich der bei einer UV-Detektion bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ mittels RPLC 1 ermittelten NPEO-Gehalte in den emulgierbaren Konzentraten nach Festphasenextraktion. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Bestimmungen angegeben.

6.1.4 Fest-Flüssig-Extraktion

Eine Fest-Flüssig-Extraktion ist vor allem für die PSM, die in Form von wasserdispergierbaren Granulaten vorlagen, geeignet, da sich die enthaltenen Tenside mit geeigneten Extraktionsmitteln gut extrahieren lassen. Auf diese Weise wurden ebenfalls die pulverförmigen Waschmittelproben extrahiert. Bei solchen Proben handelt es sich in der Regel um Feststoffe, bei denen sich APEO relativ leicht extrahieren lassen. So konnten etwa APEO aus pulverförmigen Waschmittel bereits durch kräftiges Rühren einer methanolischen oder ethanolischen Suspension quantitativ extrahiert werden [179, 253]. Mit alkoholischen Extraktionsmitteln werden ebenfalls andere Tenside wie z. B. LAS vollständig extrahiert. Auch andere Lösemittel wie *n*-Hexan sind zur Extraktion von APEO aus Feststoffen geeignet. So wurde beispielsweise NPEO von imprägnierten Wollfasern neben warmen Methanol auch mit Dichlormethan extrahiert [139].

Die beiden in dieser Arbeit verwendeten, als Schüttelmethode und Dispersionsmethode bezeichneten Methoden (s. **Abs. 5.4.2.3**), sind insofern komplementäre Methoden, als

dass die Schüttelmethode von der Durchführung sehr einfach gestaltet ist und wenig Arbeitsaufwand bedarf, da nach Einwaage der Proben mit Hilfe einer Schüttelmaschine mit Ethanol extrahiert wurde. Das Gemisch wurde solange geschüttelt, bis das Granulat in der ethanolischen Lösung feindispers vorlag. Der hierfür ermittelte erforderliche Zeitaufwand beträgt mindestens 36 h. Nach Sedimentation der Feststoffe wurden die gelösten APEO mit der ethanolischen Phase abgetrennt.

Die Dispersionsmethode bedarf hingegen eines höheren Arbeitsaufwandes, ist jedoch für deutlich kleinere Probenmengen geeignet und benötigt geringerer Lösemittelmengen ($< 25\text{ ml}$). Mit ihr werden unter Verwendung eines Dispergiergerätes die PSM in Acetonitril sehr fein dispergiert und die in Acetonitril gelösten APEO durch abfiltrieren von der festen Matrix getrennt.

Es wurden die beiden unterschiedlichen Lösemittel Ethanol und Acetonitril gewählt, damit die Extraktionen der in fester Form vorliegenden PSM 1, PSM 2 und PSM 9 mit zwei vollkommen unabhängigen Fest-Flüssig-Extraktionsmethoden durchgeführt werden konnten. Mit Hilfe der Schüttelmethode wurden auch die Suspensionskonzentrate PSM 6 und PSM 10 untersucht, die mit den in dieser Arbeit untersuchten Lösemitteln (s. **Abs. 6.1.1**) nicht vollständig in Lösung gebracht werden konnten.

Von großer Bedeutung für die Richtigkeit der nach Fest-Flüssig-Extraktion mittels RPLC 1 ermittelten Ergebnisse sind die erreichbaren Extraktionsausbeuten, da möglichst eine quantitative Extraktion der APEO erreicht werden sollte. Eine Abschätzung wurde auf unterschiedliche Weise erreicht. Zum einen kann ein Vergleich der mit beiden Methoden erzielten Ergebnisse Auskunft über die mit beiden Methoden erzielbaren Ausbeuten geben. Zum anderen ließen sich die Extraktionsausbeuten durch gezielte Wiederfindungsexperimente ermitteln.

Tabelle 6.3: Für die Wiederfindungsexperimente mit der Schüttelmethode verwendete aufgestockte Proben.

Probenart	APEO-Typ	verwendeter	aufgestockter	
		APEO-Standard	Gehalt /	% (w/w)
Dispergierbares Granulat	OPEO	Triton X-100	0,763	(PSM 1A)
Suspensionskonzentrat	NPEO	Arkopal N 100	4,132	(PSM 10A)
Suspensionskonzentrat	OPEO	Arkopal O 100	0,541	(PSM 10B)
Suspensionskonzentrat	OPEO	Triton X-100	2,624	(PSM 10C)
Waschmittel	OPEO	Triton X-100	1,483	(WMP 2)
Waschmittel	OPEO	Arkopal O 100	1,347	(WMP 4)

Zu diesem Zweck wurden mit der Schüttelmethode mit APEO aufgestockte Proben extrahiert und mittels RPLC 1 untersucht. Dafür wurden Waschmittelproben sowie das wasserdispergierbare Granulat PSM 1 und das Suspensionskonzentrat PSM 10 verwendet, da vorherige Analysen dieser Proben ergeben hatten, dass diese keine NPEO und OPEO enthielten. Für die Wiederfindungsexperimente wurden die in **Tab. 6.3** angegebenen aufgestockten Proben verwendet.

Die aufgestockten Proben wurde wie alle anderen Proben auch jeweils mit 100 *ml* Ethanol mindestens 36 *h* lang mittels der Schüttelmethode extrahiert. Um den Einfluss der beiden für die RPLC verwendeten Trennsysteme auf die Wiederfindung zu untersuchen, wurde die Probe PSM 10A sowohl mittels RPLC 1 unter Verwendung der stationären Phase 5 μm Eurospher 100 C18 (125 *mm* x 4 *mm* I.D.) und der mobilen Phase Acetonitril / Wasser 78:22 (*v/v*) als auch RPLC 2 mit 5 μm Eurospher 100 C18 (250 *mm* x 4 *mm* I.D.) und Methanol / Wasser 75:25 (*v/v*) analysiert. Dabei wurde bei der RPLC 1 (Agilent-HPLC) mittels VWD sowohl bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ als auch bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ detektiert. Bei der RPLC 2 (Shimadzu-HPLC 1) fand der DAD ($\lambda = 227 \text{ nm}$ und $\lambda = 277 \text{ nm}$) und der FLD ($\lambda_{\text{ex}} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 300 \text{ nm}$) Anwendung. Die übrigen Proben PSM 1A, PSM 10B, PSM 10C, WMP 2 und WMP 4 wurden mittels RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 1) unter Verwendung des DAD ($\lambda = 227 \text{ nm}$ und $\lambda = 277 \text{ nm}$) und des FLD ($\lambda_{\text{ex}} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 300 \text{ nm}$) analysiert.

Bei den durchgeführten Wiederfindungsexperimenten zeigte sich, dass bei der Extraktion mit Ethanol mittels der Schüttelmethode durchweg gute bis sehr gute Extraktionsausbeuten erreicht werden können. Es wurde in allen aufgestockten Proben > 85 % der APEO wiedergefunden (s. **Abb. 6.10** und **Abb. 6.11**), wobei die Wiederfindungsraten für die untersuchten Waschmittel deutlich oberhalb von 90 % lagen. Aber auch für die PSM waren die Extraktionsausbeuten in der Regel > 90 %.

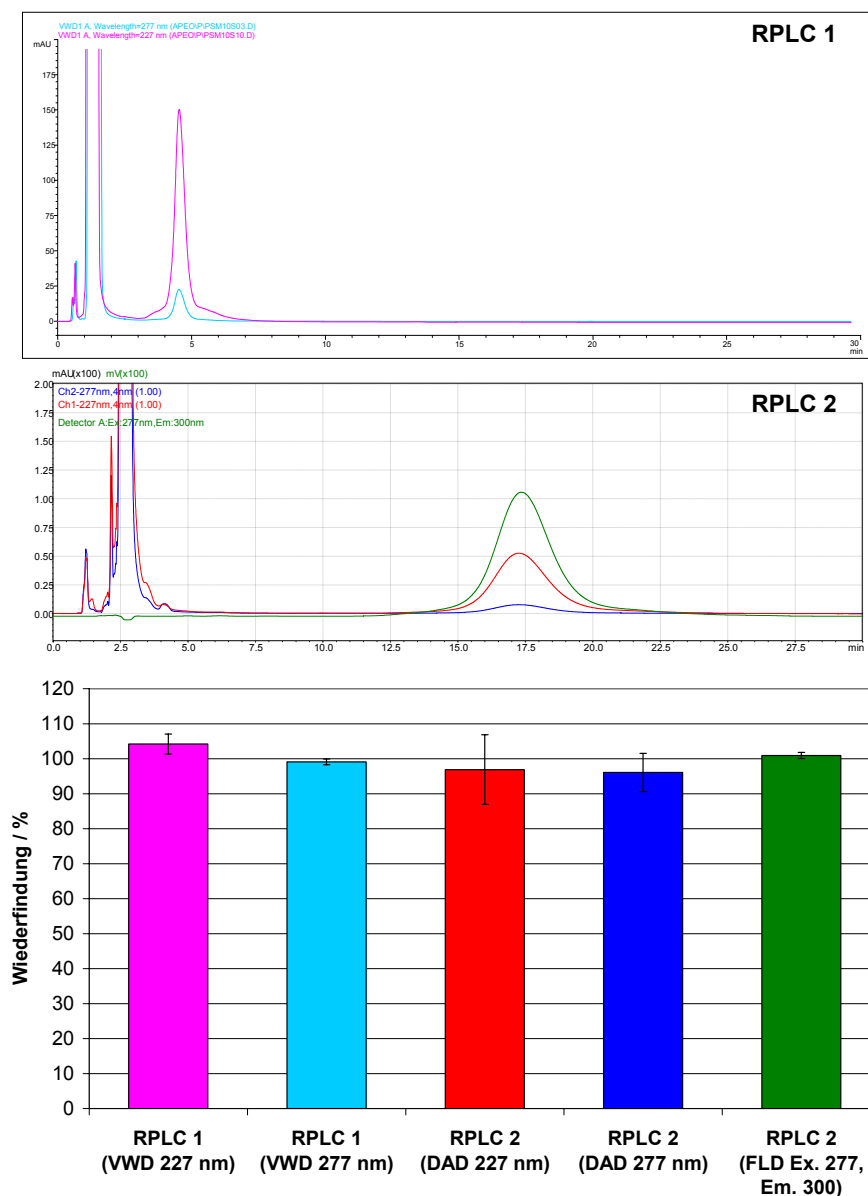


Abbildung 6.10: Mittels der RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 1) unter Verwendung der stationären Phase $5\ \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125\ \text{mm} \times 4\ \text{mm}$ I.D.) und der mobilen Phase Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v) und mittels der RPLC 2 mit $5\ \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($250\ \text{mm} \times 4\ \text{mm}$ I.D.) und Methanol / Wasser 75:25 (v/v) ermittelte Wiederfindungsraten von NPEO in dem aufgestockten Suspensionskonzentrat PSM 10A. Die NPEO wurden mittels UV ($\lambda = 227\ \text{nm}$ und $\lambda = 277\ \text{nm}$) und Fluoreszenz ($\lambda_{\text{ex}} = 277\ \text{nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 300\ \text{nm}$) detektiert. Die Chromatogramme, die für die RPLC 1 und RPLC 2 mit den unterschiedlichen Detektoren aufgezeichnet wurden, sind oben dargestellt.

Ein Vergleich der RPLC 1 mit der RPLC 2 zeigt für das aufgestockte Suspensionskonzentrat (PSM 10A) keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden RPLC-Methoden (s. Abb. 6.11). Es kann lediglich zu Abweichungen in Abhängigkeit vom verwendeten

Detektor kommen. Diese können signifikant sein, wie es für das aufgestockte Suspensionskonzentrat PSM 10B mit einer maximalen Abweichung von annähernd 20 % zwischen DAD ($\lambda = 277 \text{ nm}$) und FLD der Fall ist und werden bei geringeren APEO-Gehalten $< 1 \%$ (w/w) (PSM 10B und PSM 1A) größer (s. **Abb. 6.11**). Daher ist in den Fällen von kleineren APEO-Konzentrationen der empfindlichere und selektivere Fluoreszenzdetektor zu bevorzugen, mit dem in allen Proben Wiederfindungen $> 90 \%$ ermittelt wurden. Bei vier der Proben waren sie nahezu 100 %. Die Wahl der richtigen analytischen Methode hat bei den PSM-Proben daher einen größeren Einfluss auf die Güte der Ergebnisse als die Extraktionsmethode selbst, da mit ihr nahezu quantitative Extraktionsausbeuten erreicht werden.

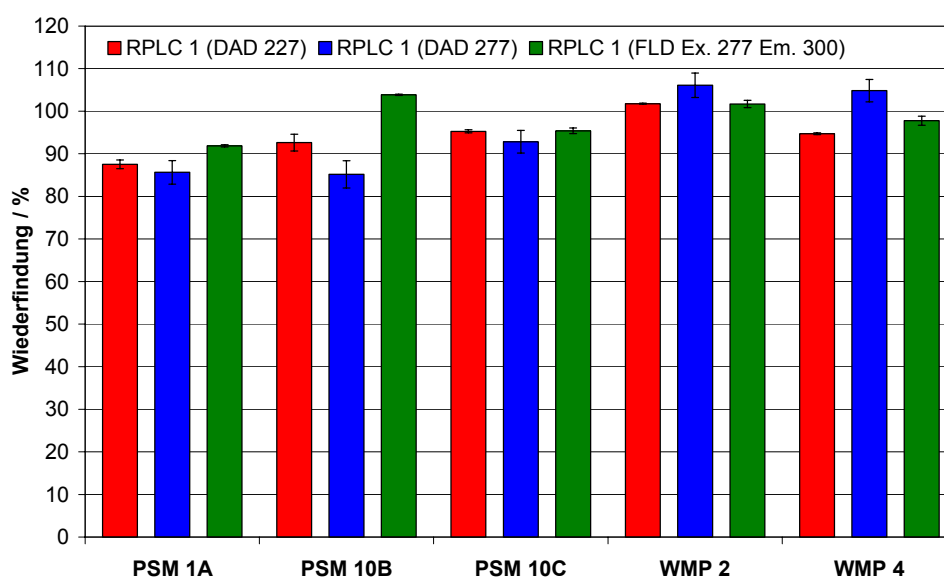


Abbildung 6.11: Mittels der RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 1) unter Verwendung der stationären Phase $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm I.D.}$) und der mobilen Phase Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v) ermittelte Wiederfindungsraten von OPEO in aufgestockten PSM und Waschmitteln. Es wurde mittels DAD ($\lambda = 227 \text{ nm}$ und $\lambda = 277 \text{ nm}$) und FLD ($\lambda_{\text{ex}} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 300 \text{ nm}$) detektiert.

Mit Hilfe der Schüttelmethode und Ethanol als Extraktionsmittel wurden von den PSM die wasserdispergierbaren Granulate und die Suspensionskonzentrate sowie die Waschmittelpulver untersucht. In den vier untersuchten Waschmittelpulvern WMP 1, WMP 2, WMP 3 und WMP 4 wurden nach Extraktion mit Ethanol keine APEO nachgewiesen. Von den untersuchten PSM wurden nach Fest-Flüssig-Extraktion in dem Granulat PSM 1 und dem Suspensionskonzentrat PSM 10 keine APEO nachgewiesen, während in den anderen beiden Granulaten PSM 2 und PSM 9 OPEO mit sehr ähnlichen Gehalten nachgewiesen wurden. In dem Suspensionskonzentrat PSM 6 wurden NPEO nachgewiesen. Die mit Hilfe

der beiden RPLC-Methoden unter Verwendung unterschiedlicher Detektoren ermittelten APEO-Gehalte sind der **Tabelle 6.12** zu entnehmen. Es wurde jede Probe einer Dreifachbestimmung unterzogen. Wurden die Analysen der PSM-Proben mit Hilfe der Shimadzu-HPLC 1 durchgeführt, wurde mit Hilfe des Fluoreszenzdetektors aufgrund seiner größeren Selektivität und Empfindlichkeit quantifiziert (s. a. **Abs. 6.5.3**). Die Detektoren wurden extern mit Kalibrierlösungen von Arkopal O 100 und Triton X-100 für PSM 2 und PSM 9 sowie mit Kalibrierlösungen von Arkopal N 100 und Marlophen NP 9 für PSM 6 kalibriert.

Tabelle 6.4: Mittels RPLC 1 und RPLC 2 ermittelte APEO-Gehalte in den untersuchten wasserdispergierbaren Granulaten und Suspensionskonzentraten nach Extraktion der APEO mittels Fest-Flüssigextraktion unter Verwendung der Schüttelmethode und Ethanol als Extraktionsmittel. Die Ergebnisse sind angegeben als Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen.

Probe	APEO-Typ	APEO-Gehalt / % (<i>w/w</i>)		
		RPLC 1-VWD ($\lambda = 227 \text{ nm}$)	RPLC 1-VWD ($\lambda = 277 \text{ nm}$)	RPLC 2-FLD
PSM 1 (WG)		APEO nicht nachgewiesen		
PSM 2 (WG)	OPEO	$0,35 \pm 0,01$	$0,338 \pm 0,007$	$0,377 \pm 0,008$
PSM 6 (SC)	NPEO	$(0,70 \pm 0,05)$	$0,44 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,01$
PSM 9 (WG)	OPEO	$0,36 \pm 0,02$	$0,338 \pm 0,006$	$0,358 \pm 0,008$
PSM 10 (SC)		APEO nicht nachgewiesen		

Das mit Hilfe der RPLC 1 mittels UV-Detektion bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ ermittelte Ergebnis von PSM 6 weicht um mehr als 30 % von den Ergebnissen der anderen beiden RPLC-Bestimmungen ab. Ursache hierfür sind wahrscheinlich koeluierende Matrixbestandteile, die bei der für APEO weniger spezifischen Wellenlänge von $\lambda = 227 \text{ nm}$ zu Überbefunden führten. Außerdem war der NPEO-Peak bei dieser Wellenlänge deutlich durch vorher eluierende Matrixbestandteile gestört (s. **Abb. 6.12**). Er lag auf der Flanke eines großen Matrixpeaks und war daher nur fehlerhaft auswertbar. Diese Störung war bei einer Detektorwellenlänge von $\lambda = 277 \text{ nm}$ deutlich geringer und führte nur zu vernachlässigenden Fehlern. Das Ergebnisse der RPLC 1 für PSM 6, das bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ ermittelt wurde, bleibt daher unberücksichtigt. Ansonsten weisen die ermittelten Ergebnisse maximale Abweichungen von 10 % zwischen den verschiedenen RPLC-Bestimmungen auf.

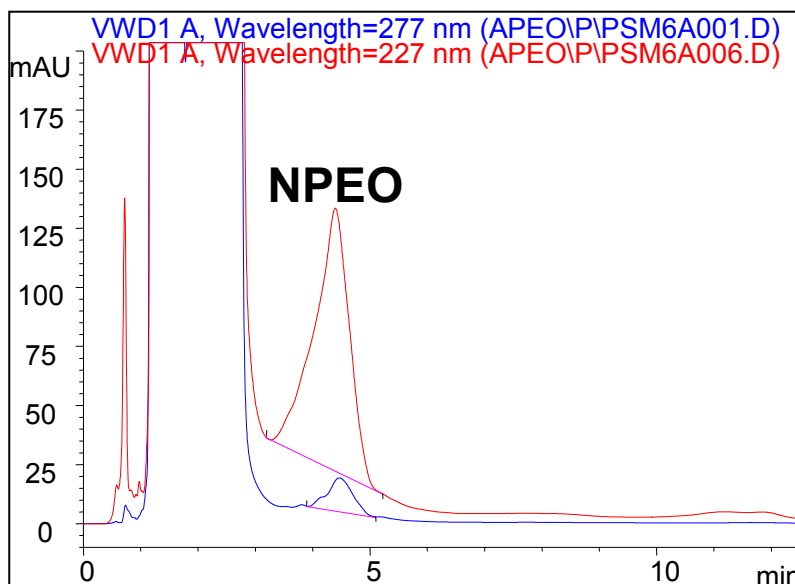


Abbildung 6.12: Matrixstörung bei der Bestimmung von NPEO in dem ethanolischen Extrakt von PSM 6 bei der RPLC 1. Der NPEO-Peak im Chromatogramm bei einer UV-Detektion bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ ist stark gestört. Durch Detektion bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ läßt sich diese Störung deutlich vermindern.

Die als Alternative für die wasserdispergierbaren Granulate angewendete Fest-Flüssig-Extraktion mittels der Dispergiermethode mit Acetonitril als Extraktionsmittel zeigt ebenso wie die Schüttelmethode sehr gute Extraktionsausbeuten, jedoch mit einem deutlich geringeren Bedarf an Lösemittel. Da bei dieser Methode mehrfach mit $2,5 \text{ ml}$ -Aliquoten von Acetonitril extrahiert wurde, ließ sich der Extraktionsverlauf sehr gut anhand einer Untersuchung der einzelnen Extraktionsschritte verfolgen. Wie **Abb. 6.13** zeigt, wurden schon mit den ersten drei Extraktionsschritten bei einem Gesamtvolumen des Extraktionsmittels von $7,5 \text{ ml}$ Acetonitril nahezu 90 % der APEO extrahiert. Bei dem nächsten Extraktionsschritt waren es bereits über 97 %. Bei einem Volumen des Extraktionsmittels von 15 ml ließen sich $> 99 \%$ aus dem PSM-Granulat extrahieren. Diese Extraktionsmethode stellte sich als äußerst effizient heraus.

Die wasserdispergierbaren Granulate PSM 2 und PSM 6 wurden mit dieser Methode extrahiert, indem jeweils ca. 1 g mit $6 \times 2,5 \text{ ml}$ Acetonitril extrahiert, auf ein Volumen von 25 ml aufgefüllt und mittels RPLC 1 unter Verwendung der Shimadzu-HPLC 1 und des Fluoreszenzdetektors analysiert wurde. Es wurden von jeder Probe Dreifachbestimmungen durchgeführt, indem extern mit Kalibrierlösungen von Arkopal O 100 und Triton X-100 kalibriert wurde.

In dem wasserdispergierbaren Granulat PSM 1 wurden keine APEO nachgewiesen. In PSM 2 wurden $(0,34 \pm 0,02) \% (w/w)$ OPEO nachgewiesen. In PSM 6 wurde der gleiche OPEO-Gehalt mit $(0,340 \pm 0,001) \% (w/w)$ bestimmt. Die mit Hilfe der Dispersionsme-

thode ermittelten OPEO-Konzentrationen entsprechen den mit Hilfe der Schüttelmethode bestimmten Werten (s. **Tab. 6.4**) mit maximalen Abweichungen $< 10\%$ sehr gut, was die Gleichwertigkeit der beiden Fest-Flüssig-Extraktionsmethoden aufzeigt.

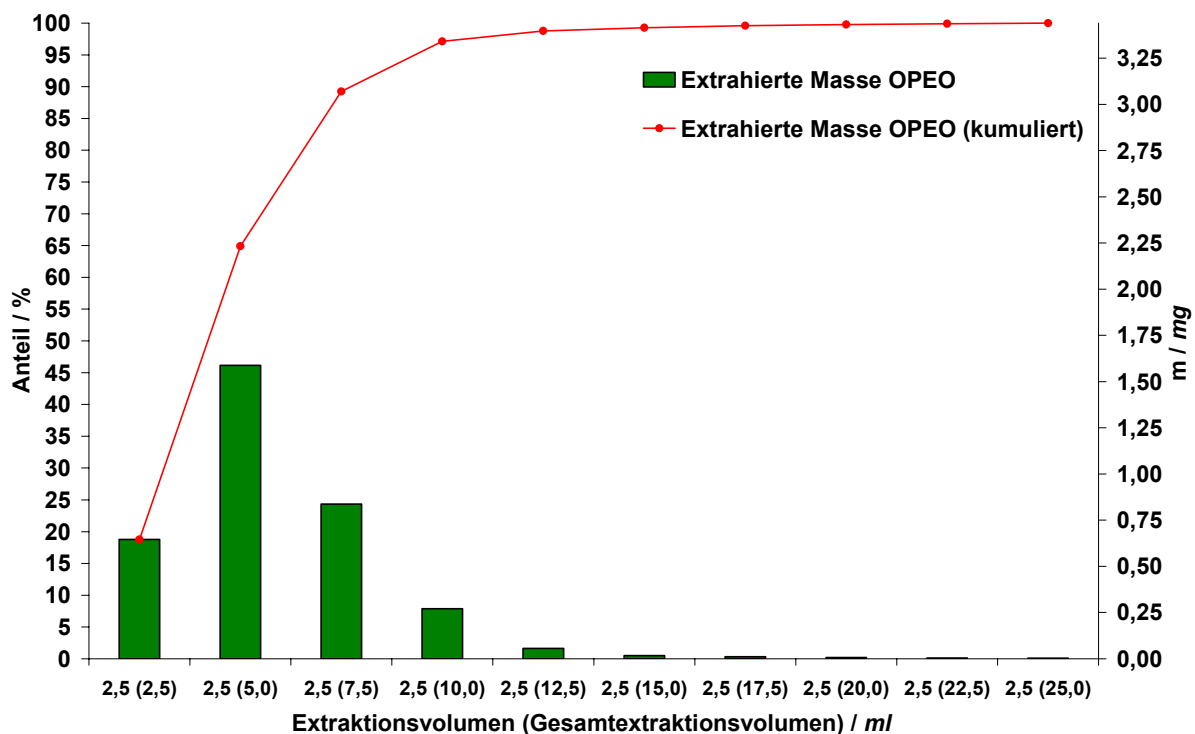


Abbildung 6.13: Extraktionsverlauf der Fest-Flüssig-Extraktion von OPEO aus einem waserdispersiblen PSM-Granulat. Die Extraktion von 1,0474 g PSM 2 wurde mit Hilfe der Dispersionsmethode und mit Acetonitril als Extraktionsmittel durchgeführt. Es wurden insgesamt 3,44 mg OPEO extrahiert, was einem OPEO-Anteil in der Probe von 0,33 % (v/v) entspricht.

6.1.5 Flüssig-Flüssig-Extraktion

Zur Extraktion hydrophober organischer Substanzen aus wässrigen Lösungen ist im allgemeinen die Flüssig-Flüssig-Extraktion eine sehr geeignete Methode, da sie sehr einfach durchzuführen ist. Grenzflächenaktive Substanzen wie APEO weisen jedoch keine eindeutige Präferenz für die organische Phase aus. Vielmehr findet wegen der hydrophilen als auch hydrophoben Gruppen der Tenside in der Regel eine Anreicherung an der Phasengrenzfläche statt. Das Ausschütteln von Tensiden mit einem geeigneten Extraktionsmittel ist dennoch für nicht zu verdünnte wässrige Lösungen möglich.

Dazu wird meistens die Lösung vor der Extraktion mit anorganischen Salzen wie NaCl oder Na_2SO_4 gesättigt, um die Hydratation der hydrophilen Tensidgruppen und die Wasserlöslichkeit des Extraktionsmittels herabzusetzen [179, 320]. Eine Emulsionsbildung, die

oberhalb der CMC der Tenside auftritt, kann gewöhnlich durch Begrenzen des Tensidgehaltes im System und den Zusatz eines Elektrolyten oder eines geeigneten Kosolvens kontrolliert werden [320].

Die grundlegende Idee des in dieser Arbeit verfolgten Ansatzes war es jedoch nicht, mit Hilfe der Flüssig-Flüssig-Extraktion die Analyten zu isolieren, also die APEO, sondern die bei der RPLC störenden Bestandteile der Matrix, wie dies etwa aromatenhaltige Lösemittebestandteile in emulgierbaren Konzentraten sein können. Ferner sollte eine Methode entwickelt werden, die bei einem minimalen präparativen Aufwand mit möglichst geringen benötigten Probenmengen und geringem Verbrauch an Lösemitteln ein Entfernen der Matrixbestandteile erlaubte.

Generell sollte durch Verteilen von polaren und unpolaren Stoffen zwischen zwei nicht mischbare Phasen, bestehend aus einem polaren und einem unpolaren Lösemittel, ein Entfernen der unpolaren Matrixbestandteile von emulgierbaren PSM-Konzentraten möglich sein. So wurde z. B. nach einer Homogenisierung von Fisch- und Schalentiergeweben mit Acetonitril und wasserfreiem Na_2SO_4 bei der Isolierung von $\text{NP}(\text{EO})_1$, $\text{NP}(\text{EO})_2$, NP und OP ein Entfernen von Lipiden, die eine spätere, flüssigkeitschromatographische Analyse stören würden, durch Verteilung zwischen Acetonitril und *n*-Hexan erreicht [380, 382]. Sun et al. [363] verwendeten zur NPEO-Bestimmung mittels HPLC das System Acetonitril // *n*-Hexan in einem Volumenverhältnis von 1:1 (*v/v*) um alle organischen unpolaren Verbindungen aus Emulsionen oder Schälzmitteln, die bei der Textilherstellung verwendet wurden, zu entfernen.

Um eine möglichst hohe Anzahl an unterschiedlichen Zweiphasensystemen einschließlich von Salzzusätzen, Kosolventien und anderen Zusätzen testen zu können, wurden die Versuche so konzipiert, dass die Flüssig-Flüssig-Extraktionen direkt mit gleichgroßen Volumina der beiden Phasen von jeweils $750\ \mu\text{l}$ in 1,5-*ml*-Crimpials durchgeführt wurde. Ein Schütteln der Vials mittels Minishaker von 10 s bei einer sehr hohen Frequenz von $2500\ \text{min}^{-1}$ stellte dabei eine ausreichende Durchmischung der beiden Phasen sicher. Nach der Phasentrennung wurde jeweils die mit der RPLC kompatible Phase (z. B. Wasser, Acetonitril) unmittelbar mittels isokratischen RPLC (Agilent-HPLC 1, Methode RPLC 1, VWD $\lambda = 227\ \text{nm}$) analysiert, indem direkt $50\ \mu\text{l}$ dieser Phase aus dem 1,5-*ml*-Vial injiziert wurden. Die Detektion bei der für APEO weniger selektiven Wellenlänge von $\lambda = 227\ \text{nm}$ (s. **Abs. 6.5.2**) erfolgte, damit Matrixeffekte deutlicher erkannt wurden, da diese Wellenlänge eine höhere Empfindlichkeit gegenüber der Matrix aufwies.

Das von Tsuda et al. [380, 382] und Sun et al. [363] beschriebene Zweiphasensystem Acetonitril // *n*-Hexan war insofern gut für diese Zwecke geeignet, als dass beide Phasen nicht mischbar sind, sie deutliche Unterschiede in der Polarität aufwiesen und Acetonitril sehr gut für die RPLC geeignet war. Außerdem haben die zunächst durchgeführten

Löslichkeitsversuche gezeigt, dass typische zur Formulierung von PSM verwendete Löse-
mittel [183] wie z. B. Cyclohexanon, Xylol, Solvesso 100, Solvesso 150, Toluol, Kerosin
und Petrol alle sehr gut in *n*-Hexan löslich sind. Ferner zeigte sich, dass die untersuch-
ten Sonnenblumenöle, das Rapsöl und das Sojaöl ebenfalls gut in *n*-Hexan löslich sind.
Diese Pflanzenöle waren für die durchgeführten Untersuchungen daher von Bedeutung,
da es sich um in PSM als Beistoffe zugelassene Öle handelte [51]. Die Löslichkeit der
untersuchten synthetischen Öle war ebenfalls ausreichend hoch.

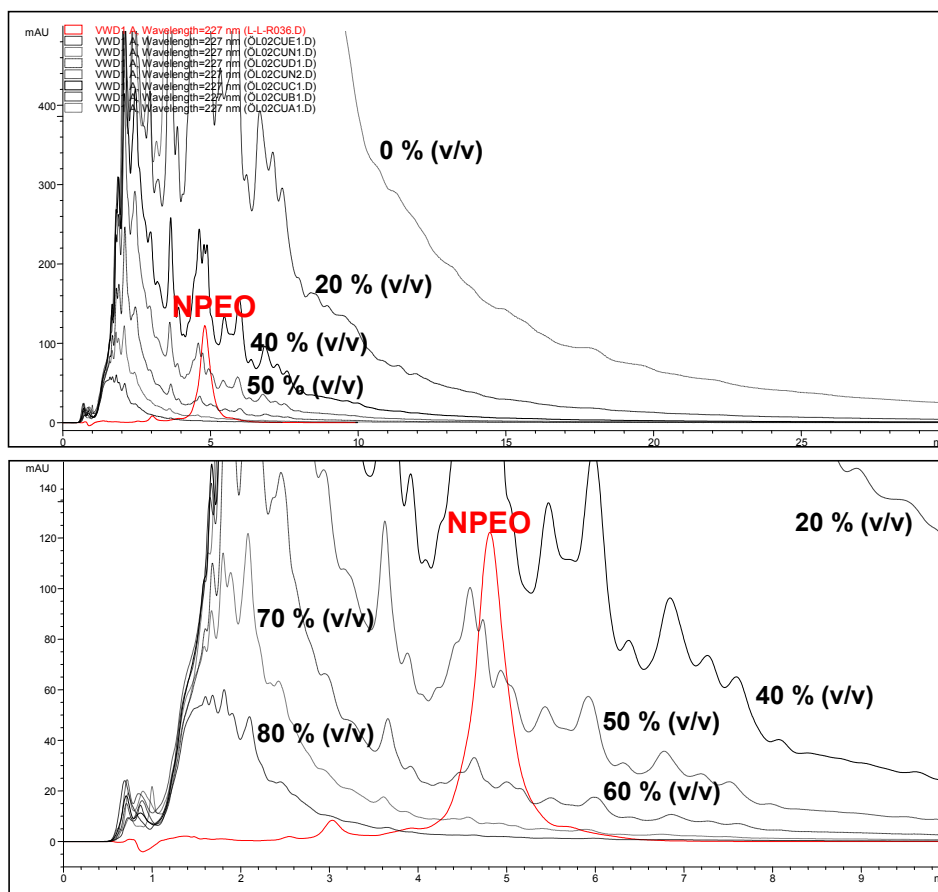


Abbildung 6.14: Störungen einer Öl-Matrix auf die Bestimmungen mittels RPLC1 nach Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Acetonitril / Wasser // *n*-Hexan. Durch Erhöhen des Wasseranteils von 0 % (v/v) auf 80 % (v/v) in der Acetonitril / Wasser-Phase ließen sich die Störungen durch die Matrix des untersuchten Krafttraföls (Öl S4) vollständig eliminieren. Zum Vergleich ist das Chromatogramm einer Lösung von 100 mg · l Arkopal N 100 abgebildet. Es wurde bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ detektiert.

Es zeigte sich jedoch sehr schnell, dass die Polaritätsunterschiede zwischen *n*-Hexan ($P' = 0,1$ ¹) und Acetonitril ($P' = 5,8$) noch nicht ausreichend hoch waren, um alle getesteten Löse-
mittel oder Ölbestandteile in ausreichendem Maße aus der Acetonitrilphase zu

¹ P' : Polaritätsindex nach L. R. Snyder [343, 344]

extrahieren. Der Zusatz von Wasser ($P' = 10,2$) konnte die Effizienz deutlich steigern, wie aus **Abb. 6.14** ersichtlich wird.

Für das in **Abb. 6.14** gezeigte Beispiel einer Matrix von Krafttrafoöl (ÖlS4) ist erst ein Wasseranteil von 70 % bis 80 % ausreichend, um die bei der chromatographischen Bestimmung von APEO mittels RPLC 1 störenden Matrixbestandteile nahezu vollständig in die *n*-Hexanphase zu überführen. Bei den übrigen oben angesprochenen Matrices zeigte sich in vielen Fällen ein ähnliches Bild. Es ist daher naheliegend, dass für die polare Phase reines Wasser bzw. Wasser mit einem organischen Lösemittelanteil deutlich unter 50 % die geeignete Wahl ist. Hierbei bestand jedoch die grundlegende Gefahr einer Emulsionsbildung. Sollte mit Hilfe dieser Flüssig-Flüssig-Extraktionsmethode eine Bestimmung der APEO in den emulgierbaren PSM-Konzentraten durchgeführt werden, war für die Analyse von bis zu maximal 100 mg der PSM ein Konzentrationsbereich von $10 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $500 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ APEO in der wässrigen Phase zu erwarten. Dieser ergab sich aus den mit Hilfe der RPLC in ethanolischer Lösung (s. **Abs. 6.5**) bzw. nach SPE (s. **Abs. 6.1.3**) durchgeführten APEO-Bestimmungen der emulgierbaren Konzentrate. Da solche APEO-Konzentrationen im Bereich der kritischen Mizellbildungskonzentrationen für wässrige Lösungen von $\text{CMC} = 29,5 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (NP1EO) bis $\text{CMC} = 79 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (NP20EO) liegen [305], war die Zugabe geeigneter Salze oder Kosolventien erforderlich, um die Emulsionsbildung zurückzudrängen. Aus diesem Grund wurden verschiedene Salze, Lösemittel, Säuren und weitere Zusätze zum Modifizieren der wässrigen Phase getestet. Zu diesem Zweck wurden Lösungen von $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 100 in verschiedenen wässrigen Systemen mit *n*-Hexan als Oberphase getestet. Dabei wurden als Modellmatrices alle synthetischen Öle (s. **Abb. 5.1**) und alle Pflanzenöle (s. **Abb. 5.1**) untersucht. Als typische Vertreter der zur Formulierung von PSM verwendeten Lösemittel [183] wurden Solvesso 100, Solvesso 150, Kerosin, Petrol spezial, Isophoron, 1-Methyl-2-pyrrolidon, Toluol und Xylol untersucht. Ziel dieser Untersuchungen war es, ein System zu finden, bei dem einerseits keine Emulsionsbildung auftritt und andererseits eine Verteilung der APEO zugunsten der wässrigen Phase erreicht wird. Außerdem sollte eine Anreicherung der Matrixbestandteile, die bei der Bestimmung der APEO mittels RPLC stören, in der *n*-Hexanphase erzielt werden.

In empirischen Untersuchungen wurden zunächst die Alkohole Methanol, Ethanol, 2-Propanol und Ethandiol sowie die Lösemittel Aceton und Acetonitril als Kosolventien getestet (s. **Abb. 6.15**). Mit Ausnahme von Ethandiol und 2-Propanol ließ sich erst bei Wassergehalten $< 80 \%$ eine Bildung von w/o-Emulsionen (Winsor-II-Typ) in der *n*-Hexanphase unterbinden. Die in der wässrigen Phase wiedergefundenen NPEO stiegen mit dem Lösemittelanteil in der wässrigen Phase an. Bei zu geringen Lösemittelanteilen ist die Verteilung der NPEO zur *n*-Hexanphase hin verschoben (s. **Abb. 6.15**), wohingegen

bei zu hohem Lösmittelanteil eine nur unzureichende Anreicherung der Matrixbestandteile in der *n*-Hexanphase stattfindet (s. **Abb. 6.14**).

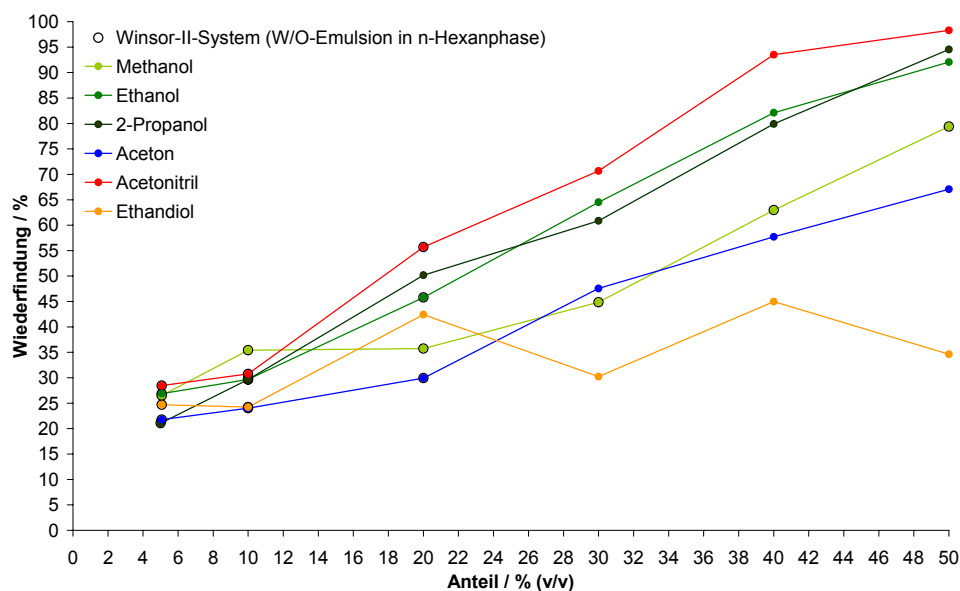


Abbildung 6.15: Wiederfindung von NPEO in der wässrigen Phase nach Ausschütteln mit *n*-Hexan unter Verwendung unterschiedlicher Lösemittelanteile in der wässrigen Phase. Die Bildung von Emulsionen des Typs Winsor II (w/o-Emulsion) in der *n*-Hexanphase wurde teilweise beobachtet.

Es stellte sich heraus, dass Acetonitril die besten Eigenschaften aufwies. Bei einem Volumenanteil $> 20\%$ in der wässrigen Phase wurde keine Bildung von w/o-Emulsionen mehr beobachtet, wobei die erzielten Wiederfindungen von Arkopal N 100 für dieses Lösemittel am höchsten waren. Ethanol und 2-Propanol waren ähnlich effizient, was die in der wässrigen Phase wiedergefundene Menge an NPEO und das Verhindern der Bildung von w/o-Emulsionen angeht. Wie die nachfolgenden Untersuchungen jedoch zeigten, hatte aber der aufgrund ihrer Löslichkeit in *n*-Hexan verbundene Übergang dieser Alkohole auch in die organische Phase zur Folge, dass der damit verbundene Polaritätsanstieg der *n*-Hexanphase keine effiziente Abtrennung der verschiedenen untersuchten PSM- und Ölmatrix mehr gestattete. Außerdem wurde das Volumenverhältnis der beiden Phasen von 1:1 (*v/v*) zugunsten der *n*-Hexanphase verschoben. Von den untersuchten Lösemitteln war daher Acetonitril als einziges geeignet. Dabei erwies sich eine wässrige Phase mit einem Anteil von 30% (*v/v*) Acetonitril als geeignet, um die meisten Matrixinterferenzen durch Ausschütteln mit der *n*-Hexanphase zu eliminieren. Lediglich für Isophoron kam es noch zu deutlichen Matrixstörungen. Bei dem Schmieröl ÖLS9 und dem Motoröl ÖLS8 kam es noch zu geringfügigen störenden Einflüssen der Matrix, die nur für sehr niedrige APEO-Gehalte $< 10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ an Bedeutung gewinnen. Es ließ sich mit diesem System eine

Wiederfindung von 71 % Arkopal N 100 in der wässrigen Phase erreichen. Für weniger komplexe Matrices ist eine wässrige Phase mit 40 % (*v/v*) Acetonitril geeignet, da mit ihr Wiederfindungen von Arkopal N 100 von 94 % erreicht wurden.

In einer zweiten Untersuchungsreihe wurden auf analoge Weise die Salze Natriumchlorid, Magnesiumsulfat, Magnesiumacetat und Tetrabutylammoniumhydrogensulfat, die Säuren Schwefelsäure, Essigsäure und Trifluoressigsäure sowie Saccharose untersucht (s. **Abb. 6.16**).

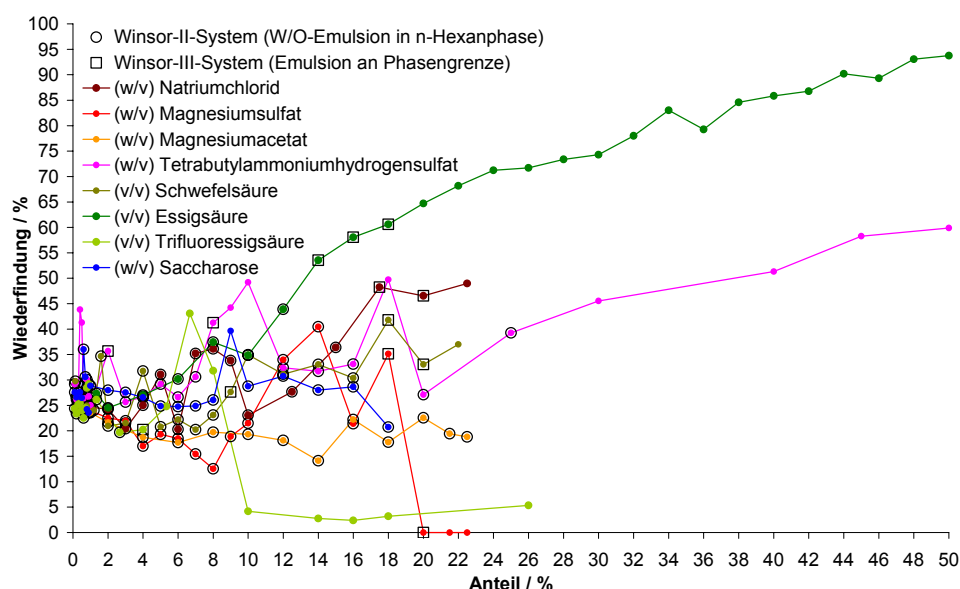


Abbildung 6.16: Wiederfindung von NPEO in der wässrigen Phase nach Ausschütteln mit *n*-Hexan unter Verwendung unterschiedlicher Anteile an Salzen, Säuren und Saccharose in der wässrigen Phase. Die Bildung von Emulsionen des Typs Winsor II (w/o-Emulsion) in der *n*-Hexanphase und des Typs Winsor III an der Phasengrenze wurde teilweise beobachtet.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich in den meisten Fällen mit steigendem Gehalt zunächst ein Übergang von einer w/o-Emulsionen in der *n*-Hexanphase zu einer Emulsion zwischen der wässrigen und der *n*-Hexanphase (Winsor-III-Typ). Dabei gelang mit Natriumchlorid und Magnesiumsulfat erst mit nahezu gesättigten Lösungen ein Brechen der beobachteten Emulsionen, jedoch mit NPEO-Wiederfindungsraten $< 50\%$. Magnesiumacetat war für diesen Zweck ungeeignet. Auch Tetrabutylammoniumhydrogensulfat, das zwar zum Brechen der Emulsionen geeignet war, zeigte keine genügenden Wiederfindungen für Arkopal N 100 ($< 60\%$). Unter den Säuren erwies sich lediglich Essigsäure als geeignet. Trifluoressigsäure bricht zwar schon bei Gehalten $< 10\%$ (*v/v*) die auftretenden Emulsionen, es lassen sich dann aber nur noch weniger 5 % Arkopal N 100 in der wässrigen Phase nachweisen. Schwefelsäure ist erst bei sehr hohen Anteilen von mehr als

20 % (v/v) bei NPEO-Wiederfindungen von unter 40 % in der Lage die Bildung von Emulsionen zu unterdrücken. Auch Saccharose ist nicht geeignet. Mit 30 % (v/v) Essigsäure in Wasser wurden bei 74 %-iger Wiederfindung von Arkopal N 100 lediglich für Isophoron noch stärkere Störungen festgestellt. Leichtere Matrixstörungen wurden für das Getriebeöl Öls1 und das Walzöl Öls11 festgestellt, deren Einfluss aber nur für APEO-Gehalte $< 10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ zum Tragen kommen. Eine Steigerung auf 40 % (v/v) für weniger komplexe Matrices bewirkt eine Erhöhung der Wiederfindung auf 86 %.

Wie die Untersuchungen gezeigt haben, ist ein Zusatz von 30 % (v/v) Essigsäure oder 30 % (v/v) Acetonitril zur wässrigen Phase geeignet sowohl die Bildung von Emulsionen zu unterbinden als auch für eine ausreichende Anreicherung der die RPLC störenden Matrixbestandteile von Ölen sowie von typischen zur Formulierung von PSM verwendeten Lösemitteln zu ermöglichen. Beide Mittel sind gleichermaßen gut geeignet. Essigsäure wurde lediglich aus praktischen Gründen für die weiteren Untersuchungen ausgewählt, da mit ihr nach dem Ausschütteln der wässrigen Phase mit n -Hexan die anschließende Phasentrennung deutlich schneller stattfand.

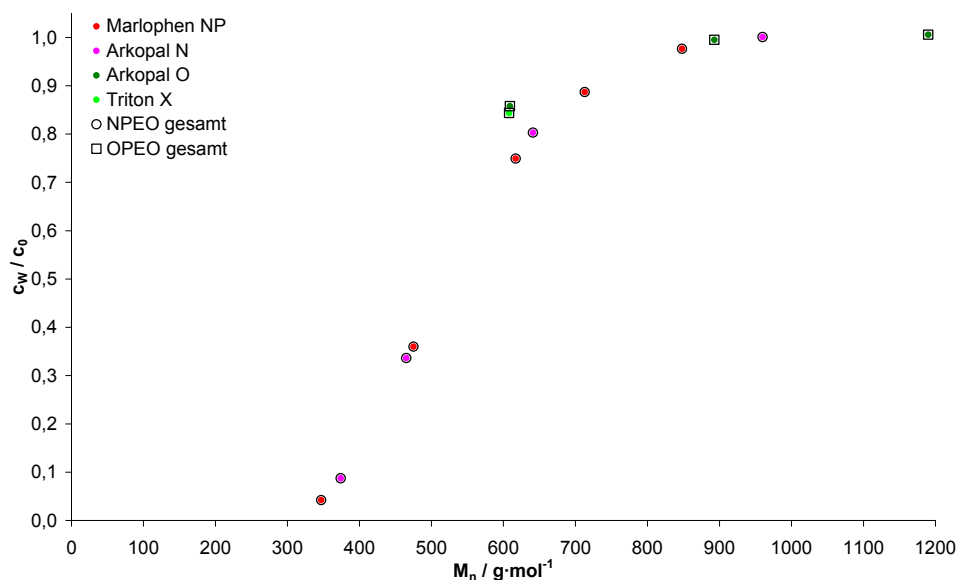


Abbildung 6.17: Abhängigkeit des nach Ausschütteln mit n -Hexan in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) verbliebenen Anteils der APEO von der mittleren Molmasse. Es wurde mit einem Volumenverhältnis von 1:1 (v/v) extrahiert (c_0 : APEO-Konzentration vor dem Ausschütteln; c_W : APEO-Konzentration nach dem Ausschütteln).

Für eine Bestimmung der APEO mittels RPLC in emulgierbaren Konzentraten oder anderen Matrices hat die Verteilung der APEO zwischen der wässrigen Phase und der n -Hexanphase einen entscheidenden Einfluss auf die Kalibrierbarkeit der Methode. Soll beispielsweise bei der Analyse eine externe Kalibrierung des Detektors mit Kalibrierlö-

sungen erfolgen, so darf der Anteil an APEO, der während der Flüssig-Flüssig-Extraktion der Matrixbestandteile ebenfalls in die *n*-Hexanphase übergeht nur vernachlässigbar gering sein oder aber er muss bekannt sein. Wie bereits erwähnt wurde, werden deutliche Mengen von Arkopal N 100 (24 %) aus der wässrigen Phase extrahiert. Der Anteil der aus der wässrigen Phase ebenfalls extrahierten APEO hängt sehr stark vom Ethoxylierungsgrad der APEO ab. Für APEO mit geringer mittlerer Molmass $M_n < 400 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ liegt der Anteil deutlich über 90 % (s. **Abb. 6.17**), da diese aufgrund des geringen Ethoxylierungsgrades und der damit verbundenen kurzen Polyoxyethylengruppe eine geringere Wasserlöslichkeit und eine höhere Präferenz für die organische Phase aufweisen. Mit steigender Molmasse, also steigendem Ethoxylierungsgrad, nimmt die Löslichkeit in *n*-Hexan ab sowie die Löslichkeit in Wasser zu, so dass sich das Verteilungsgleichgewicht zugunsten der wässrigen Phase umkehrt und für APEO mit $M_n \geq 900 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ vollständig auf Seiten der wässrigen Phase liegt.

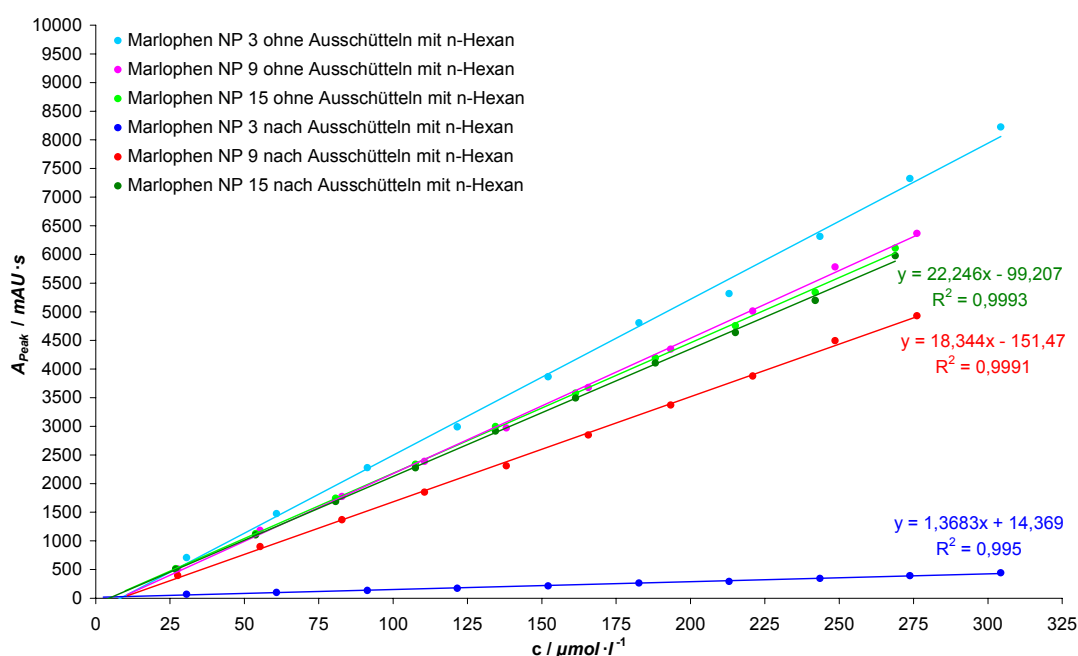


Abbildung 6.18: Mit Hilfe der Kalibrierlösungen von Marlophen NP 3, Marlophen NP 9 und Marlophen NP 15 in Wasser / Essigsäure 70:30 (*v/v*) ermittelte Kalibrierfunktionen für die NPEO-Bestimmung mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $\lambda = 227 \text{ nm}$) nach Flüssig-Flüssig-Extraktion mit *n*-Hexan. Die drei verwendeten NPEO-Standards Marlophen NP 3 ($\bar{n}_{EO} = 2,87$), Marlophen NP 9 ($\bar{n}_{EO} = 9,01$) und Marlophen NP 15 ($\bar{n}_{EO} = 14,26$) unterscheiden sich im mittleren Ethoxylierungsgrad deutlich. Zum Vergleich sind die Kalibriergeraden dargestellt, die ohne Ausschütteln der Kalibrierlösungen mit *n*-Hexan erhalten wurden. Es sind Mittelwerte für $N = 3$ Bestimmungen jedes Kalibrierniveaus angegeben.

Aufgrund des stark vom Ethoxylierungsgrad abhängigen Verteilungsgleichgewichts der APEO zwischen beiden Phasen war eine andere Kalibrierstrategie notwendig, die von der in dieser Arbeit für alle anderen Bestimmungen mittels RPLC verwendeten abwich. Es musste mit APEO-Standards kalibriert werden, die den in der Probe enthaltenen APEO entsprachen. Eine Kalibrierung mit diesen APEO-Standards fand dann so statt, dass Kalibrierlösungen in der wässrigen Phase, die zur Flüssig-Flüssig-Extraktion verwendet wurde, hergestellt wurden und wie bei den Proben $750\ \mu\text{l}$ dieser Lösungen ebenfalls mit $750\ \mu\text{l}$ n -Hexan ausgeschüttelt wurden. Auf diese Weise ließen sich Kalibriergeraden in einem Konzentrationsbereich von $30\ \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $300\ \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ erhalten, die für die untersuchten APEO eine sehr gute Linearität aufwiesen. Die Steigungen dieser Kalibriergeraden und somit die Empfindlichkeit der Methode variierte in Abhängigkeit vom Ethoxylierungsgrad aufgrund der oben beschriebenen, unterschiedlichen Verteilung der APEO zwischen den beiden Phasen sehr stark. Die Empfindlichkeit der Methode nimmt mit sinkendem mittleren Ethoxylierungsgrad der APEO sehr stark ab (s. **Abb. 6.18**).

Da die Empfindlichkeit der Methode sehr stark vom Ethoxylierungsgrad der APEO abhängt, empfiehlt sich die zusätzliche Anwendung von Korrekturfaktoren für alle Fälle, bei denen keine APEO-Standards mit geeigneten Ethoxylierungsgraden zur Verfügung stehen. Die Übereinstimmung der mittleren Ethoxylierungsgrade der zur Kalibration verwendeten APEO mit denen in der Probe zu analysierenden APEO hat einen sehr großen Einfluss auf die Richtigkeit der Ergebnisse. Für eine entsprechende Korrektur der Ergebnisse bei einem vom verwendeten Kalibrierstandard abweichendem mittleren Ethoxylierungsgrad der Analyten ist eine Abschätzung des Verteilungskoeffizienten K_{HW} der APEO zwischen der wässrigen Phase (W) und der n -Hexanphase (H) anhand des mittleren Ethoxylierungsgrades \bar{n}_{EO} notwendig. Der Verteilungskoeffizienten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ für einen bestimmten mittleren Ethoxylierungsgrad \bar{n}_{EO} ist nach dem *Nernst'schen Verteilungsgesetz* durch die Stoffmengenkonzentrationen c in beiden Phasen gegeben als:

$$K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = \frac{c_W^{\bar{n}_{EO}}}{c_H^{\bar{n}_{EO}}} \quad (6.1)$$

Die Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ von \bar{n}_{EO} kann durch folgende lineare Beziehung beschrieben werden [262, 263]:

$$\log K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = \log K_{HW}^0 + k \cdot \bar{n}_{EO} \quad (6.2)$$

Dabei beschreibt der Ordinatenabschnitt $\log K_{HW}^0$ den auf $\bar{n}_{EO} = 0$ extrapolierten Verteilungskoeffizienten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$. Die Konstante k stellt eine für den APEO-Typ charakteristische Größe dar und beträgt beispielsweise für das System Wasser / n -Heptan für NPEO 0,45 [262, 263]. Durch eine geeignete Auftragung der mit Hilfe geeigneter Experimente bestimmten Verteilungskoeffizienten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ verschiedener APEO gegen deren mit Hilfe

der NPLC-FLD (s. **Abs. 6.3.4**) ermittelten mittleren Ethoxylierungsgrad \bar{n}_{EO} lassen sich $\log K_{HW}^0$ und k bestimmen (s. **Abb. 6.19**). $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ kann aus den Konzentrationen C_0 der APEO in der wässrigen Phase vor dem Ausschütteln mit n -Hexan und aus den Konzentrationen C_W der APEO in der wässrigen Phase nach dem Ausschütteln mit n -Hexan bestimmt werden.

Die Experimente wurden durchgeführt, indem mit gleichen Volumen der wässrigen Phase (V_W) und der n -Hexanphase (V_H) ausgeschüttelt wurde. Dabei wurden von allen in **Tab. 5.2.1** auf Seite 101 angegebenen APEO annähernd äquimolare Lösungen in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) von $150 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$ hergestellt, mittels RPLC 1 analysiert und aus den Chromatogrammen die APEO-Peakfläche $A_{Peak,0}$ bestimmt. Darauf wurden $750 \mu l$ dieser Lösungen mit $750 \mu l$ n -Hexan wie oben beschrieben ausgeschüttelt, die wässrige Phase ebenfalls mit der RPLC 1 analysiert und aus den Chromatogrammen die Peakflächen $A_{Peak,W}$ bestimmt. Dabei wurden für jeden Standard zehn Bestimmungen durchgeführt und die mittleren Peakflächen $\bar{A}_{Peak,0}$ und $\bar{A}_{Peak,W}$ aus den zehn Wiederholungen berechnet. Wegen $V_W = V_H$ folgt für $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ aus **Gl. 6.1** unmittelbar die Abhängigkeit von den Stoffmengen $n_W^{\bar{n}_{EO}}$ in der wässrigen Phase und $n_H^{\bar{n}_{EO}}$ in der n -Hexanphase nach dem Ausschütteln:

$$K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = \frac{n_W^{\bar{n}_{EO}}}{n_H^{\bar{n}_{EO}}} \quad (6.3)$$

Dabei besteht für die APEO-Stoffmenge $n_H^{\bar{n}_{EO}}$ mit $n_W^{\bar{n}_{EO}}$ und der Gesamtstoffmenge $n_0^{\bar{n}_{EO}}$ der Zusammenhang:

$$n_H^{\bar{n}_{EO}} = n_0^{\bar{n}_{EO}} - n_W^{\bar{n}_{EO}} \quad (6.4)$$

Da die Stoffmengen in der wässrigen Phase vor dem Ausschütteln der Gesamtstoffmenge $n_0^{\bar{n}_{EO}}$ entspricht und da für jede RPLC-Bestimmung i die Peakflächen $A_{Peak}^i \propto n_i^{\bar{n}_{EO}}$ sind, kann unter Verwendung der **Gl. 6.3** und **Gl. 6.4** der Verteilungskoeffizienten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ berechnet werden gemäß:

$$K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = \frac{n_W^{\bar{n}_{EO}}}{n_0^{\bar{n}_{EO}} - n_W^{\bar{n}_{EO}}} = \frac{\bar{A}_{Peak,W}}{\bar{A}_{Peak,0} - \bar{A}_{Peak,W}} \quad (6.5)$$

Ferner gilt:

$$K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = \frac{C_W^{\bar{n}_{EO}}}{C_0^{\bar{n}_{EO}} - C_W^{\bar{n}_{EO}}} \quad (6.6)$$

Die mit **Gl. 6.5** aus den ermittelten Peakflächen berechneten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ werden dann für die unterschiedlichen APEO gegen ihre mittels der NPLC-FLD bestimmten \bar{n}_{EO} -Werte aufgetragen, wie in **Abb. 6.19** dargestellt.

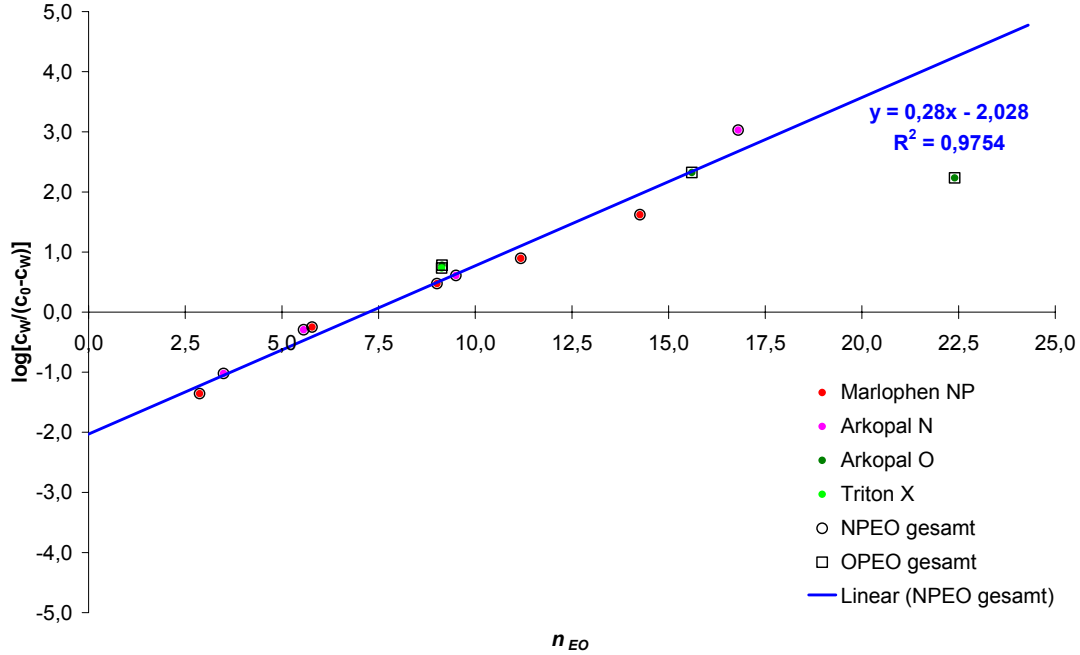


Abbildung 6.19: Zusammenhang zwischen dem Verteilungskoeffizienten $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ der APEO zwischen der wässrigen Phase (W) und der n -Hexanphase (H) und ihrem mittleren Ethoxylierungsgrad \bar{n}_{EO} . Es gilt $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = \frac{c_W}{c_W - c_0}$ mit c_W , der APEO-Konzentration in der wässrigen Phase nach dem Ausschütteln mit n -Hexan, und c_0 , der APEO-Konzentration in der wässrigen Phase vor dem Ausschütteln mit n -Hexan. Weitere Angaben siehe Text.

Aus einer durchgeführten Regressionsanalyse ergab sich dann für die untersuchten NPEO folgende Bestimmungsgleichung, mit deren Hilfe die $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ für unbekannte Proben aus den \bar{n}_{EO} -Werten berechnet wurden:

$$\log K_{HW}^{\bar{n}_{EO}} = (-2,03 \pm 0,17) + (0,280 \pm 0,017) \cdot \bar{n}_{EO} \quad (6.7)$$

Zur Korrektur der bei unbekannten Proben ermittelten Konzentrationen c_W oder der aus dem Chromatogramm ermittelten Peakflächen $A_{Peak,W}$ konnte dann das Verhältnis der APEO-Konzentration c_0 , die ohne Ausschütteln der Probe in der wässrigen Phase vorgelegen hätte, und der tatsächlich nach Ausschütteln mit n -Hexan ermittelten Konzentration c_W in der wässrigen Phase dienen. Es ist daher der Faktor f_{c_0/c_W} , der für die spätere Auswertung der Messdaten zur Korrektur verwendet wurde, definiert worden als:

$$f_{c_0/c_W} := \frac{c_0}{c_W} \quad (6.8)$$

Dieser Korrekturfaktor läßt sich aus $K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}$ unmittelbar durch Umstellen der **Gl. 6.6** berechnen:

$$f_{c_0/c_W} = \frac{1}{K_{HW}^{\bar{n}_{EO}}} + 1 \quad (6.9)$$

Tabelle 6.5: Korrekturfaktoren f_{c_0/c_W} für die Bestimmung des NPEO-Gehaltes in PSM-Formulierungen mittels der RPLC 1-Methode nach Flüssig-Flüssig-Extraktion der Matrix von Lösungen der PSM in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) mit *n*-Hexan.

Standard / Probe	APEO-Typ	n_{EO}	f_{c_0/c_W}
Arkopal N 040	NPEO	$3,49 \pm 0,02$	$12,3 \pm 0,1$
Arkopal N 060	NPEO	$5,56 \pm 0,04$	$4,0 \pm 0,1$
Arkopal N 100	NPEO	$9,5 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1$
Arkopal N 200	NPEO	$16,8 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,1$
Marlophen NP 3	NPEO	$2,87 \pm 0,03$	$17,8 \pm 0,1$
Marlophen NP 6	NPEO	$5,78 \pm 0,03$	$3,6 \pm 0,1$
Marlophen NP 9	NPEO	$9,01 \pm 0,04$	$1,3 \pm 0,1$
Marlophen NP 12	NPEO	$11,18 \pm 0,07$	$1,1 \pm 0,1$
Marlophen NP 15	NPEO	$14,26 \pm 0,06$	$1,0 \pm 0,1$
PSM 3	NPEO	$9,41 \pm 0,04$	$1,2 \pm 0,16$
PSM 4	NPEO	$4,2 \pm 0,2$	$8,1 \pm 0,1$
PSM 5	NPEO	$4,01 \pm 0,06$	$9,1 \pm 0,1$
PSM 7	NPEO	$3,57 \pm 0,02$	$11,7 \pm 0,16$
PSM 8	NPEO	$9,21 \pm 0,05$	$1,3 \pm 0,1$

Unter Berücksichtigung der beiden Korrekturfaktoren f_{c_0/c_W}^{ESTD} für den externen Kalibrierstandard und f_{c_0/c_W}^{Probe} für die Probe kann die auf Seite 246 in **Gl. 6.53** angegebene Auswertefunktion zur Bestimmung der APEO-Massenkonzentration c_{APEO}^{Probe} für die Proben entsprechend angepasst werden:

$$c_{APEO}^{Probe} = \frac{A_{Peak}^{Probe} - b_{ESTD}}{a_{ESTD}} \cdot \frac{M_n^{Probe}}{M_n^{ESTD}} \cdot \frac{f_{c_0/c_W}^{Probe}}{f_{c_0/c_W}^{ESTD}} \quad (6.10)$$

Die Massengehalte c_{APEO}^{Probe} in den untersuchten PSM-Proben, als % (w/w) angegeben, können dann aus den in der wässrigen Phase bestimmten Massenkonzentrationen c_{APEO}^{Probe} der APEO bzw. direkt aus den ermittelten Peakflächen A_{Peak}^{Probe} , den eingewogenen Massen m_{Probe} und dem Volumen $V_W = 750 \mu l$ der wässrigen Phase ermittelt werden nach:

$$c_{APEO}^{Probe} = \frac{A_{Peak}^{Probe} - b_{ESTD}}{a_{ESTD}} \cdot \frac{M_n^{Probe}}{M_n^{ESTD}} \cdot \frac{f_{c_0/c_W}^{Probe}}{f_{c_0/c_W}^{ESTD}} \cdot m_{Probe}^{-1} \cdot V_W \cdot 100 \% \quad (6.11)$$

Aus dem in **Abb. 6.19** dargestellten Zusammenhang zwischen dem mittleren Ethoxylierungsgrad der untersuchten APEO und ihrem Verteilungskoeffizienten zwischen den

beiden Phasen konnten mit Hilfe der **Gl. 6.7** und **Gl. 6.9** aus den mittleren Ethoxylierungsgraden (s. **Tab. 6.7** und **Tab. 6.8** S. 199) die in **Tab. 6.5** angegebenen Korrekturfaktoren f_{c_0/c_W} für die Bestimmung des APEO-Gehaltes in PSM-Formulierungen mittels der RPLC 1-Methode nach Flüssig-Flüssig-Extraktion der Matrix von Lösungen der PSM in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) mit n -Hexan ermittelt werden. Mit Hilfe der oben beschriebenen Flüssig-Flüssig-Extraktionsmethode mit anschließender APEO-Bestimmung mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $\lambda = 227 \text{ nm}$) wurden die emulgierbaren Konzentrate PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8, die flüssigen Reinigungsmittel sowie die synthetischen und pflanzlichen Öle untersucht. Es wurden wie oben beschrieben Fünffachbestimmungen von $0,5 \text{ mg}$ bis maximal 100 mg der jeweiligen Probe durchgeführt. Für PSM 3 und PSM 8 wurde mittels Arkopal N 100- und Marlophen NP 9-Lösungen kalibriert, für PSM 4 und PSM 5 mit Hilfe des Arkopal N 040-Standards. Die Analysenergebnisse der emulgierbaren Konzentrate sind in **Tab. 6.6** angegeben. Es wurden in keinem der untersuchten Reinigungsmittel und Öle APEO nachgewiesen.

Tabelle 6.6: In emulgierbaren Konzentraten mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $\lambda = 227 \text{ nm}$) bestimmte APEO-Gehalte nach Flüssig-Flüssig-Extraktion der Matrix von Lösungen der PSM in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) mit n -Hexan. Zum Vergleich sind in Klammern die unkorrigierten Werte ohne Berücksichtigung der unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der APEO in der Probe und der zur Kalibrierung verwendeten APEO-Standards angegeben.

Probe	APEO-Typ	n_{EO}	Gehalt / % (v/v)	
PSM 3	NPEO	$9,41 \pm 0,04$	$8,9 \pm 0,3$	$(13,6 \pm 0,4)$
PSM 4	NPEO	$4,2 \pm 0,2$	$0,74 \pm 0,07$	$(1,1 \pm 0,1)$
PSM 5	NPEO	$4,01 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,02$	$(0,49 \pm 0,04)$
PSM 7	NPEO	$3,57 \pm 0,02$	$7,9 \pm 0,1$	$(12,0 \pm 0,1)$
PSM 8	NPEO	$9,21 \pm 0,05$	$5,5 \pm 0,1$	$(1,1 \pm 0,1)$

Gerade wegen der Verwendung von experimentell ermittelten Korrekturfaktoren bei der Auswertung der Analysendaten war eine ausgedehnte Überprüfung der Richtigkeit dieser Methode notwendig. Daher wurde zunächst durch Aufstockungsexperimente eine große Anzahl unterschiedlicher Matrices getestet, um zu ermitteln, welchen Einfluss diese auf die Richtigkeit der Ergebnisse haben. Es wurden synthetische Öle, pflanzliche Öle, Reinigungsmittel und typische bei der Formulierung von PSM verwendete Lösemittel oder Lösemittelgemische untersucht. Im Anschluss daran wurden die selber formulierten PSM (s. **Tab. 5.15** S. 115) untersucht.

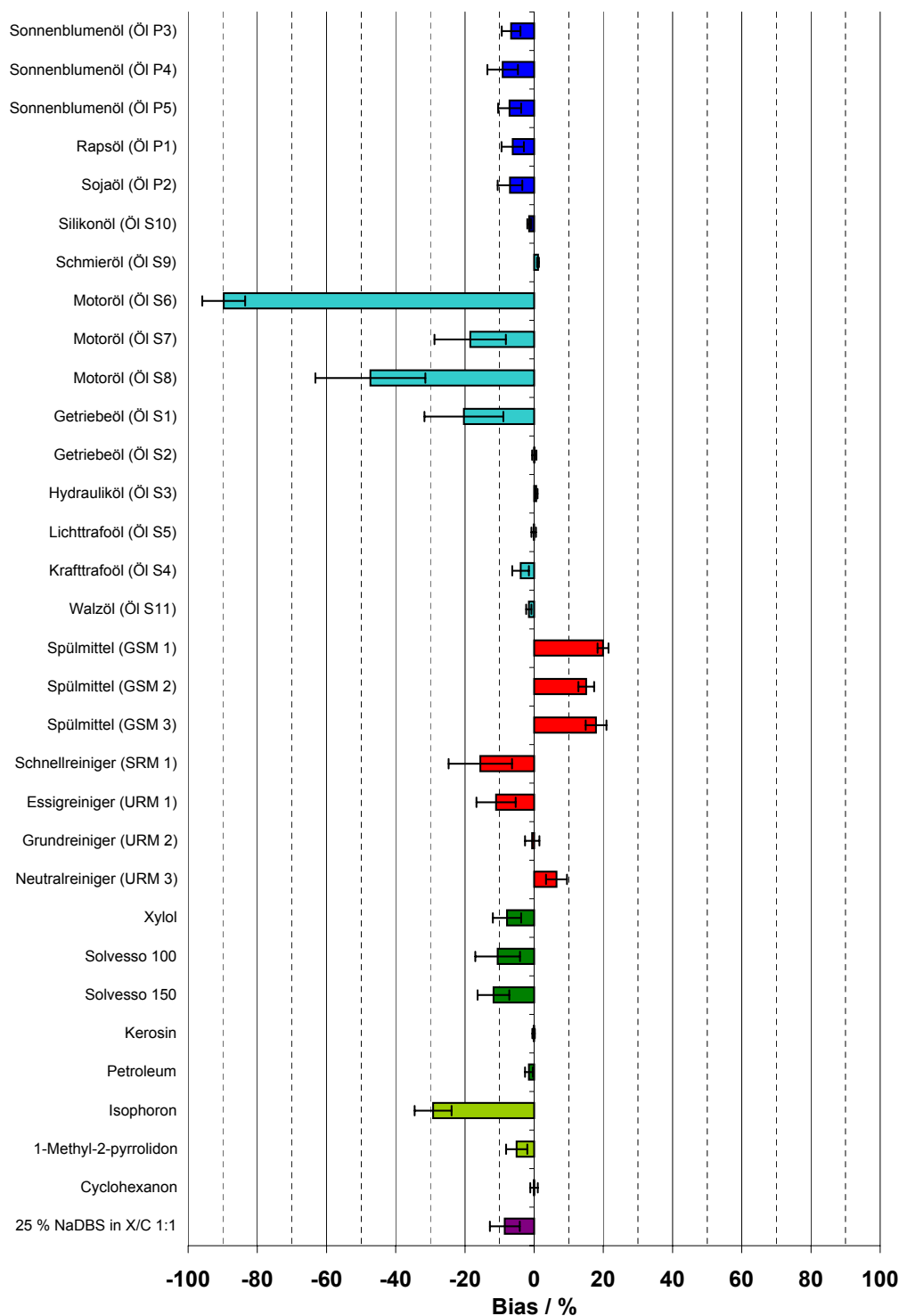


Abbildung 6.20: Mittlere Abweichungen der ermittelten NPEO-Konzentrationen in unterschiedlichen Matrices von den Istwerten nach Flüssig-Flüssig-Extraktion. Die Proben wurden mit *n*-Hexan und Wasser / Essigsäure 70:30 (*v/v*) im Volumenverhältnis 1:1 extrahiert. Die untersuchten Matrices wurden mit 0,17 % bis 1,7 % (*w/w*) Arkopal N 100 aufgestockt. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Bestimmungen angegeben (X/C 1:1 = Xylol / Cyclohexanon 1:1 (*v/v*)).

Bei den Aufstockungsexperimenten mit unterschiedlichen Matrice wurden für eine große Anzahl an Proben, für 20 der 32 untersuchten Matrices, Abweichungen vom Istwert ermittelt, die kleiner oder deutlich kleiner als 10 % waren (s. **Abb. 6.20**). Nur in drei Fällen waren die Abweichungen deutlich größer als 20 %. In der Regel waren die Wiederfindungsraten $< 100\%$. Es kam nur bei den drei Spulmitteln und einem Reinigungsmittel zu Überbefunde, deren Abweichungen vom Istwert aber unterhalb von 20 % lagen. Die größten Abweichungen wiesen zwei der drei untersuchten Motoröle auf. Bei ÖLS6 wurden lediglich 10 % der NPEO wiedergefunden, bei ÖLS8 waren es nur ca. 50 %. Neben diesen beiden Ölen wies lediglich Isophoron ebenfalls unzufriedenstellende Wiederfindungen mit ca. 75 % auf.

Die Untersuchung der selber hergestellten PSM ergab mit Ausnahme von PSM A, bei dem die Abweichungen knapp über 15 % lagen, Wiederfindungen im Bereich von 90 % oder deutlich besser. In zwei der neun untersuchten Proben waren die Wiederfindungen nahezu quantitativ. Es kam in keinem der Fälle zu Überbefunden.

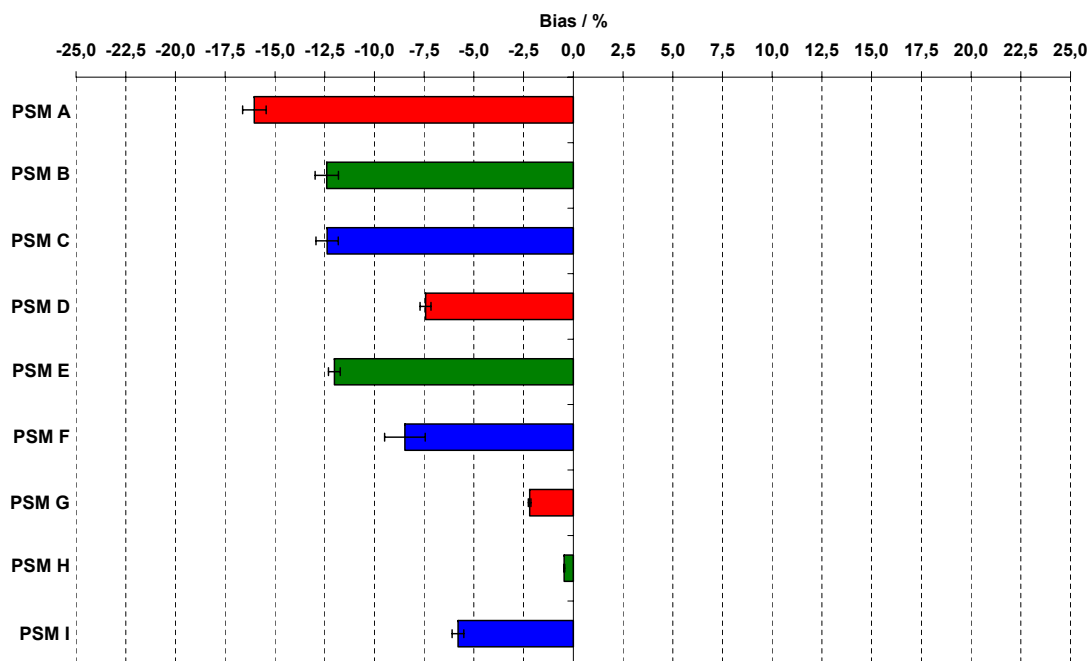


Abbildung 6.21: Mittlere Abweichung der ermittelten APEO-Konzentrationen von den Istwerten für die selber hergestellten PSM-Formulierungen nach Flüssig-Flüssig-Extraktion. Die untersuchten PSM wurden mit Marlophen NP9 (rot), Arkopal N100 (grün) und Arkopal N040 (blau) formuliert. Die Proben wurden mit *n*-Hexan und Wasser / Essigsäure 70:30 (*v/v*) im Volumenverhältnis 1:1 extrahiert. Es sind Mittelwerte für $N = 10$ Bestimmungen angegeben.

Insgesamt kann festgestellt werden, dass die oben beschriebene Methode zu relativ gu-

ten Ergebnissen führt, wie die Wiederfindungsexperimente gezeigt haben. Je nach Matrix kann es aber zu deutlich falschen Befunden kommen, so dass diese universell einsetzbare Methode vor deren Anwendung für andere Matrices mittels Wiederfindungsexperimenten getestet werden muss. Die Vorteile dieser Methode sind ihr hohes Potential zur Automatisierung. Ferner bietet sie die Möglichkeit, mit kleinsten Probenmengen bei einem geringen Bedarf an Lösemitteln und geringem Arbeitsaufwand eine große Anzahl von Proben innerhalb kurzer Zeit zu analysieren. Daher ist sie für die Routineanalytik, z. B. für ein Screening von emulgierbaren Konzentraten, geeignet. Als nachteilig ist bei dieser Methode zu sehen, dass es einer sehr sorgfältigen Kalibrierung unter Einbeziehung der Ermittlung von Korrekturfaktoren anhand der unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten bedarf. Daher ist der Aufwand bei der Etablierung und Validierung der Methode deutlich höher, da die Untersuchung einer großen Anzahl von APEO-Standards notwendig ist.

6.2 Sonstige präparative Methoden

6.2.1 Einengen von Lösemitteln bis zur Trockene

Analytische Verfahren, die aus mehreren Verfahrensschritten bestehen, bergen immer die Gefahr, dass es zu Analytverlusten kommen kann. Daher sind alle Verfahrensschritte einer Überprüfung zu unterziehen. Das Entfernen von Lösemitteln war in sofern ein für die Analysenergebnisse wichtiger Prozeß, als dass es vor der Bestimmung der Ethoxymereverteilung der APEO mittels NPLC-FLD, nach dem diese mit Hilfe der RPLC isoliert wurden, und vor der Quantifizierung der mittels SPE extrahierten APEO durchgeführt werden mußte. Auch nach der Extraktion gemäß der Wickbold-Methode war ein Entfernen des Extraktionsmittels notwendig.

Im Fall der Isolierung der APEO mittels RPLC (Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v)) und auch bei der Extraktion der APEO mittels SPE (Methanol / Wasser 95:5 % (v/v)) wurden jeweils APEO-Lösungen mit einem Wasseranteil erhalten. Bei dem hierzu verwendeten Verfahren (s. **Abs. 5.4.5.4**) wurden die Lösemittel bei gleichzeitigem Erwärmen im N_2 - oder Argonstrom abgeblasen. Grundsätzlich bedeutet hierbei gerade bei größeren Volumina eine erhöhte Temperatur eine deutliche Zeitersparnis. So konnte z. B. beim Einengen eines Volumens von 7 ml einer Lösung von APEO in Methanol / Wasser 5 % (v/v) durch Erhöhen der Tempertur von 40 °C (60 min) auf 50 °C (33 min) oder 60 °C (28 min) die Dauer deutlich verringert werden.

Bei einer zu drastischen Erhöhung der Temperatur besteht aber eine ansteigende Gefahr von Analytverlusten, da APEO mit absinkender Kettenlänge der Polyoxyethylengruppe zunehmend wasserdampfflüchtiger werden. $AP(EO)_n$ mit $n_{EO} \leq 3$ weisen eine beträcht-

liche Wasserdampflichkeit auf [3, 376]. Ob es beim Entfernen der Lösemittel in Abhängigkeit von der Temperatur zu Verlusten kommt, wurde anhand von Lösungen dreier NPEO mit unterschiedlichem Ethoxylierungsgrad untersucht.

Dazu wurden jeweils 1 ml der Lösungen von 10 mg·l⁻¹ Arkopal N 040 und 50 mg·l⁻¹ Marlophen NP 3 in Acetonitril / Wasser 75:25 (v/v) sowie 7 ml einer Lösung von 100 mg·l⁻¹ Arkopal N 100 in Methanol / Wasser 95:5 % (v/v) nach dem in **Abs. 5.4.5.4** beschriebenen Verfahren fünffach im Bereich von 40 °C bis 60 °C bis zur Trockene eingengt und anschließend wieder in Acetonitril / Wasser 75:25 (v/v) bzw. Acetonitril aufgenommen und mittels RPLC 1 analysiert.

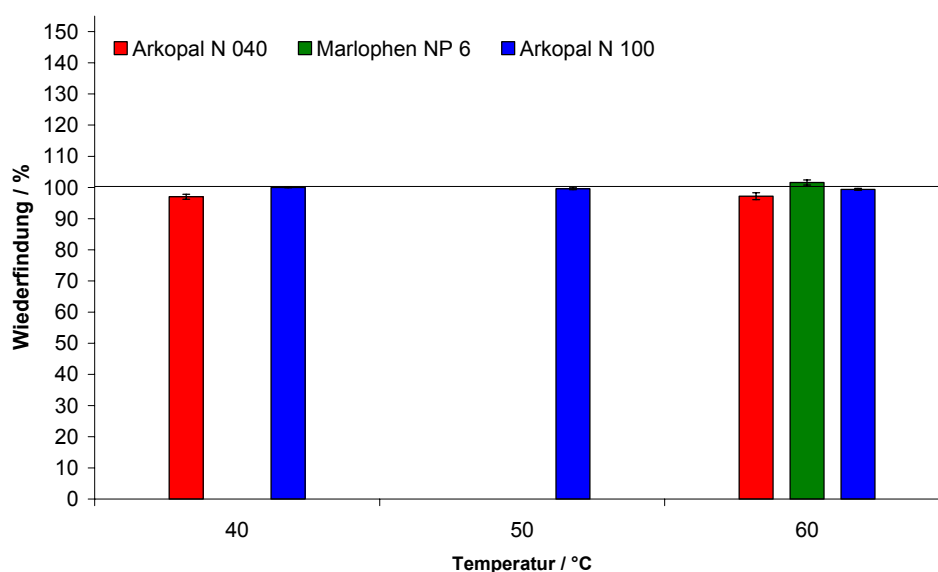


Abbildung 6.22: Wiederfindungsraten verschiedener NPEO nach Einengen des Lösemittels bis zur Trockene. Es wurde das Lösemittel im N₂-Strom bei verschiedenen Temperaturen abgeblasen. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Wiederholungen angegeben (weitere Angaben s. Text).

In dem untersuchten Temperaturbereich von 40 °C bis 60 °C führte das Entfernen der Lösemittel lediglich für NPEO mit einem niedrigen Ethoxylierungsgrad zu geringen Verlusten (s. **Abb. 6.22**). Marlophen NP 6 und Arkopal N 100 wurden mit $\geq 99,4\%$ nahezu vollständig wiedergefunden. Auch die Verluste von Arkopal N 040 während des Abblasens des Lösemittels sind vernachlässigbar. Sie betrugen $\leq 3,0\%$. Um festzustellen welche Ethoxymere dabei diskriminiert werden, wurden für Arkopal N 040 zusätzlich die Ethoxymereverteilung vor und nach dem Entfernen des Lösemittels untersucht (s. **Abb. 6.23**).

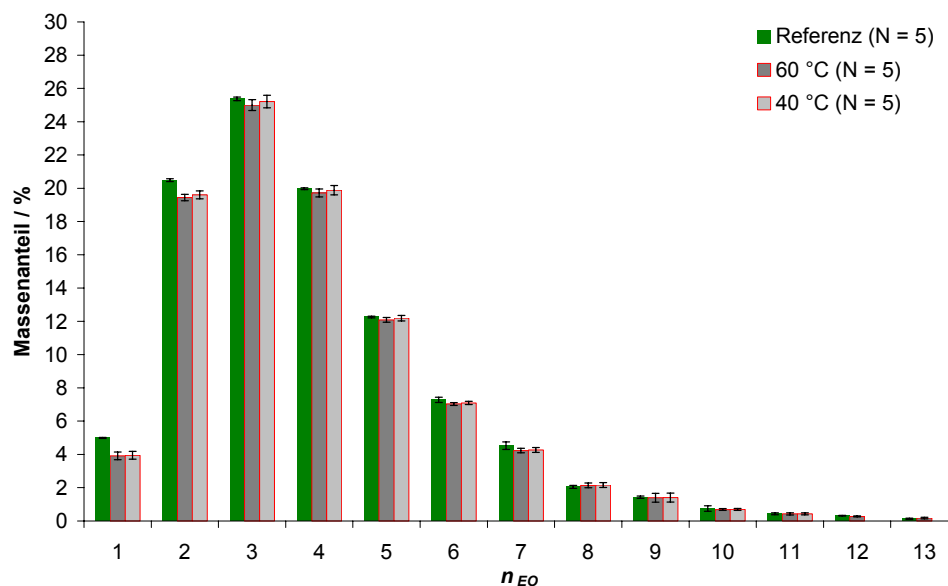


Abbildung 6.23: Massenanteile der einzelnen NPEO-Ethoxymere von Arkopal N 040 vor und nach dem Einengen des Lösemittels bis zur Trockene. Es wurde das Lösemittel im N_2 -Strom bei 40 °C und 60 °C abgeblasen. Es sind Mittelwerte für $N = 5$ Wiederholungen angegeben (weitere Angaben s. Text).

Dabei zeigte sich, dass die Verluste nahezu unabhängig von der untersuchten Temperatur (40 °C oder 60 °C) waren und es nur für $NP(EO)_1$ und $NP(EO)_2$ zu nennenswerten Verlusten kam. Ihr Anteil an den Gesamtverlusten betrug etwa zwei Drittel. Die höchsten Verluste wurden bei $NP(EO)_1$ beobachtet und betrugen für beide Temperaturen ca. 21 % des $NP(EO)_1$ -Gehaltes, bei $NP(EO)_2$ sanken diese schon auf $\leq 5\%$, was der erwarteten Annahme der sinkenden Wasserdampflichkeit entspricht [3, 376]. Für die anderen Ethoxymere waren die Unterschiede in der Regel innerhalb der Meßunsicherheit. Die Auswirkungen auf die ermittelten mittleren Molmassen (s. **Abs. 6.3.4**) waren gering. Für die Referenzprobe wurden $(374,1 \pm 0,8) g \cdot mol^{-1}$ für das Zahlenmittel bestimmt, für die APEO nach dem Entfernen des Lösemittels bei 40 °C $(375 \pm 1) g \cdot mol^{-1}$ und bei 60 °C $(376 \pm 1) g \cdot mol^{-1}$. Dabei waren die Abweichungen nur für 60 °C signifikant, sonst lagen sie innerhalb der Meßunsicherheit, so dass für die Bestimmung der Ethoxymereverteilung mittels NPLC-FLD das Entfernen der Lösemittel vor der Aufnahme der APEO in die mobile Phase bei 40 °C durchgeführt wurde. In allen anderen Fällen, besonders zum Entfernen größerer Lösemittelmengen konnten auch Temperaturen bis zu 60 °C angewendet werden. Insgesamt hat das Entfernen der Lösemittel durch Abblasen mit N_2 oder Argon keinen Einfluss auf die Analysenergebnisse.

6.3 Identifizierung und Charakterisierung von APEO

6.3.1 Überprüfen der APEO auf Alkylphenole mittels GC-MS

Um auszuschließen, dass die verwendeten APEO-Standards und die untersuchten PSM-Formulierungen Alkylphenole in relevanten Mengen enthielten, wurden die APEO und die PSM mittels GC-MS auch auf AP hin untersucht. Die ermittelbaren AP-Gehalte und somit die Relevanz von AP in den APEO sollten aber gering sein, da der Prozess bei der industriellen Darstellung von APEO ein Auftreten von AP in relevanten Mengen ausschließt. Die Ethoxylierung von Alkylphenolen zu APEO erfolgt mit basischen Katalysatoren durch Addition von Ethylenoxid (s. **Abs. 2.2.1**). Da die Acidität des Hydroxywasserstoffs am Alkylphenolring deutlich größer ist als die des Hydroxywasserstoffs am Ende der Ethylen-glykoletherkette, wird ein Proton von noch unverbrauchten Alkylphenol auf das primär gebildete Monoethoxylatanion übertragen, bevor ein weiteres Ethylenoxidmolekül addiert werden kann, so dass zunächst Alkylphenol nahezu vollständig in das Monoaddukt umgesetzt wird, bevor Polyoxyethylenalkylphenole mit zwei oder mehr Oxyethylengruppen gebildet werden [55, 214, 305, 329, 400].

Mit Hilfe der GC-MS ließen sich Nonylphenole in Marlophen NP 3 und Arkopal N 040, den beiden technischen APEO-Produkten mit den geringsten Ethoxylierungsgraden, in geringen Mengen nachweisen. Die Differenzierung zwischen 4-NP und NPEO ist mit Hilfe der GC-MS einfach zu realisieren, wie die **Abb. 6.24** deutlich zeigt. In den Gaschromatogrammen kann die für 4-NP und NP(EO)_n typische Auftrennung in die Isomere beobachtet werden. Die Nonylphenolisomere eluieren deutlich vor den NP(EO)₁-Isomeren, die wiederum von NP(EO)₂ bis NP(EO)₅ gefolgt werden.

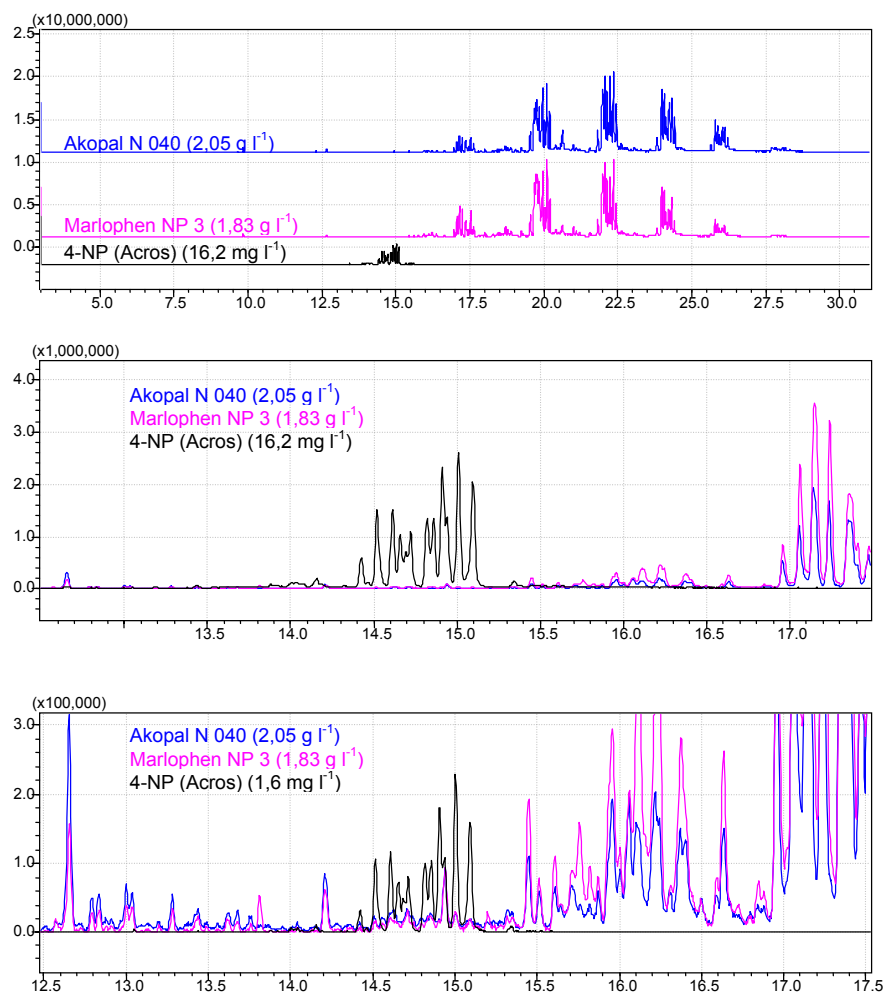


Abbildung 6.24: Nachweis von 4-NP in NPEO mittels GC-MS. Es sind die TIC von 4-NP und zwei technischen NPEO-Produkten dargestellt. Anhand der Abbildung unten lässt sich erkennen, dass 4-NP in geringen Mengen ($< 0,89\%$ (w/w)) in den technischen NPEO-Produkten enthalten war. Es wurden Lösungen von $0,162\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ sowie $0,016\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ 4-NP (Acros), $1,83\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ Marlophen NP 3 und $2,05\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ Arkopal N 040 in Ethanol untersucht (Methode GC-MS 1, splitless, s. **Tab. 5.22**).

Ferner ist ein Nachweis anhand der Massenspektren aufgrund der typischen Massen der Fragmentationen von NP eindeutig (s. **Abb. 6.25**). Die verschiedenen NP-Isomere können eindeutig anhand der Massen m/z 107 (Hydroxytropyliumkation), m/z 121 ($[\text{M} - \text{C}_7\text{H}_{15}]^+$), m/z 135 ($[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$), m/z 149 ($[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$), m/z 163 ($[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_9]^+$), m/z 177 ($[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_7]^+$), m/z 191 ($[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$) und m/z 220 ($\text{M}^{\bullet+}$) identifiziert werden.

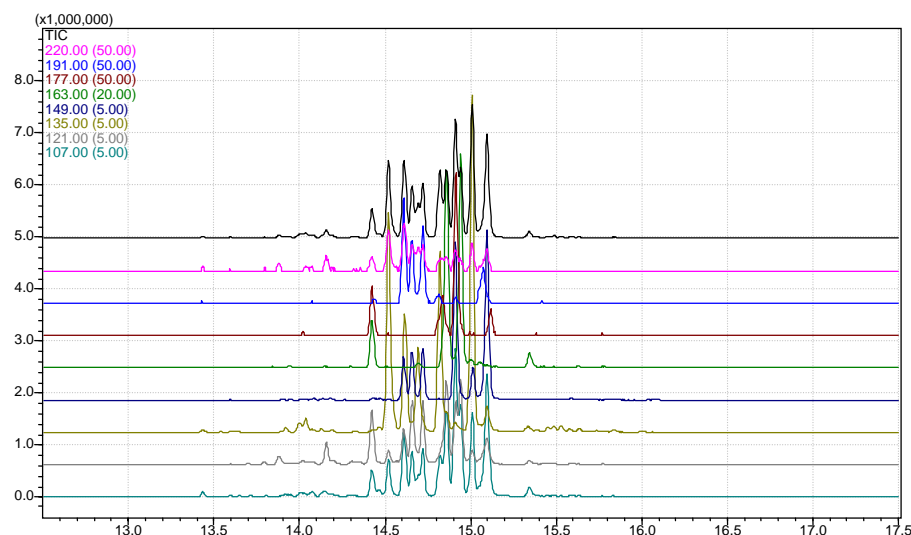


Abbildung 6.25: Identifikation von NP-Isomeren mittels GC-MS. Anhand des TIC und der RIC ist die Auftrennung in verschiedene NP-Isomere zu erkennen. Es sind die typischen Massenspuren m/z 107, m/z 121, m/z 135, m/z 149, m/z 163, m/z 177, m/z 191 und m/z 220 dargestellt. Es wurde eine ethanolische Lösung von $0,162 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ 4-NP (Acros) untersucht (Methode GC-MS 1, splitless, s. **Tab. 5.22**).

Anhand von Verdünnungsreihen mit 4-NP ließ sich eine Abschätzung der NP-Gehalte in Marlophen NP 3 und Arkopal N 040 mit dem Ergebnis machen, dass beide NPEO-Produkte NP im Bereich von $0,08 \text{ } (w/w)$ bis $0,89 \text{ } (w/w)$ enthielten. Wenn man berücksichtigt, dass Arkopal N 040 z. B. in typischen Anwendungen wie den emulgierbaren PSM-Konzentraten in Gehalten von $1,1 \text{ } (w/w)$ auftritt [73], so ergeben sich für NP Gehalte $< 0,01 \text{ } (w/w)$ in den PSM, die deutlich unterhalb des von der EU im Jahr 2003 festgelegten Grenzwertes von $0,1 \text{ } (w/w)$ liegen, zumal die zu erwartenden NP-Gehalte in den technischen NPEO-Produkten mit höherem Ethoxylierungsgrad noch deutlich unterhalb der abgeschätzten Größenordnung liegen sollten.

Ein Nachweis von Alkylphenolen mittels GC-MS ist in keinem der untersuchten PSM gelungen, so dass im weiteren Verlauf der experimentellen Arbeiten auf eine Berücksichtigung der umweltrelevanten Alkylphenole im Rahmen dieser Arbeit verzichtet werden konnte.

Dennoch können Alkylphenole in PSM eine Rolle spielen. So handelt es sich beispielsweise bei der Insektizidformulierung Matacil® 1.8 D, die zur Herstellung von Sprühmitteln zur Bekämpfung gegen den Tannentriebwickler dient, um ein öllösliches Konzentrat von Aminocarb (4-Dimethylamino-*m*-tolyl-*N*-methylcarbam), das $50,5 \text{ } \%$ Nonylphenol enthält [364].

6.3.2 Isolierung und Nachweis einzelner APEO-Ethoxymere

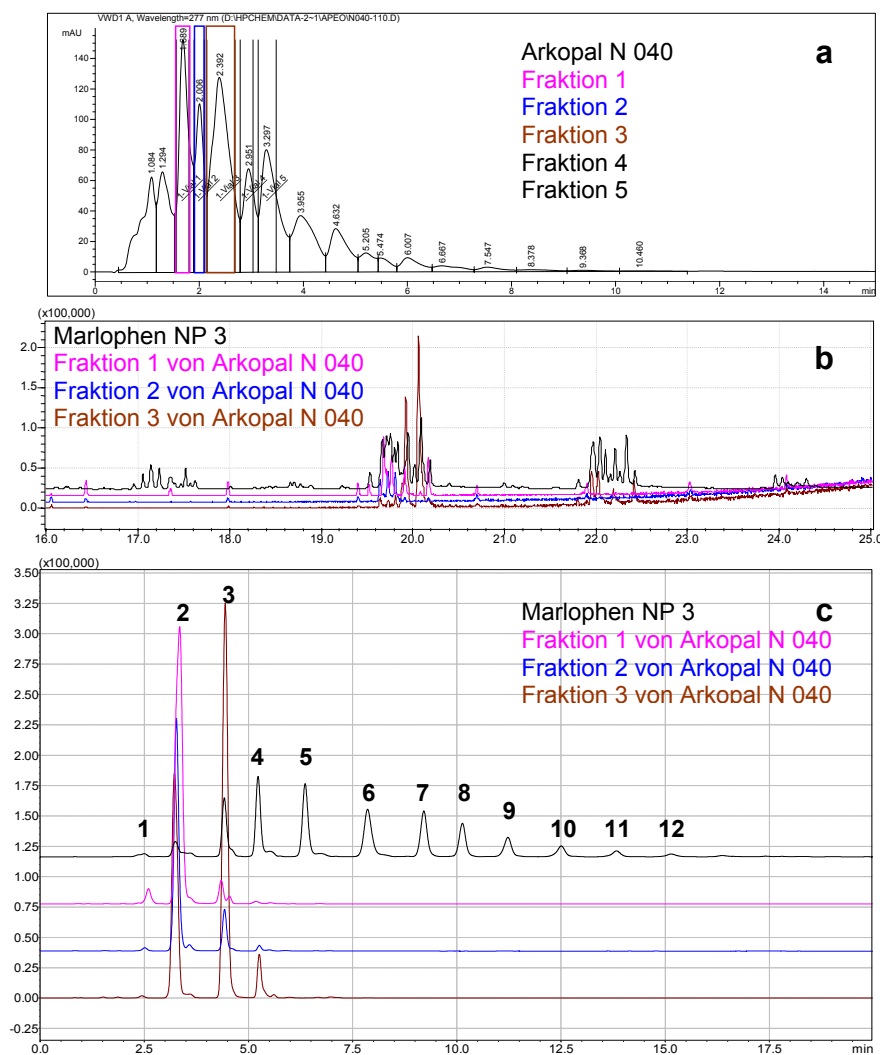
Für die Quantifizierung der APEO (s. **Abs. 6.5.5**) in den PSM und den anderen Matrices war es notwendig, die Ethoxymerenverteilung der zur Kalibration verwendeten APEO und der aus den Proben isolierten APEO zu ermitteln. Dazu wurde die NPLC-FLD verwendet, bei der es wiederum notwendig war, die einzelnen APEO-Ethoxymere den jeweiligen Peaks im Chromatogramm eindeutig zuzuordnen zu können (s. **Abs. 6.3.4.2**). Zu diesem Zweck mußten einzelne NPEO- und OPEO-Ethoxymere isoliert werden. Eine solche Isolierung hätte natürlich mit der NPLC-FLD selbst erfolgen können, jedoch verfügte das hierzu verwendete Shimadzu-HPLC 1-System zum einen über keinen Fraktionensammler und zum anderen wäre eine Ethoxymereenisolierung mit dieser Methode wenig praktikabel gewesen, da es eines sehr hohen Zeitaufwandes bedurft hätte, um ausreichende Mengen zu isolieren. Ursache hierfür sind die in der Gradientenelution begründeten langen Trennzeiten, da nach jeder Gradientenelution ebenfalls eine Reäquilibration des Systems notwendig war.

Das Agilent-HPLC-System war für diesen Zweck sehr viel besser geeignet, da es über einen Fraktionensammler verfügte und ein Rückspülen der chromatographischen Säule mit Hilfe eines über die Software schaltbaren 2-Positions-6-Wege-Ventils (s. **Abb. 5.3**) die Trennzeiten deutlich reduzieren konnte. Nach dem Sammeln der Fraktionen, die von Interesse waren, konnte die restlichen noch auf der Säule befindlichen Verbindungen nach dem Umschalten des Ventils durch Rückspülen wieder von der Säule entfernt werden.

Eine geeignete stationäre Phase fand sich mit der PGC-Phase, die zu einer einzigartigen Selektivität und hohen Auflösung isomerer und eng verwandter Verbindungen führt und bei der es sich um porösen, graphitisierten Kohlenstoff handelt. Retention auf dieser Phase findet hauptsächlich durch einen Adsorptionsmechanismus statt, der im wesentlichen auf hydrophoben Wechselwirkungen beruht. Diese Phase hat ein hohes Retentionsvermögen für AP und APEO. Gundersen [160] trennte mit einer Hypercarb-Phase, die auch in dieser Arbeit Verwendung fand, sowohl ein technisches Nonylphenolgemisch in verschiedene Isomere als auch mittels Gradientenelution mit Acetonitril und 1 %-iger (*v/v*) Essigsäure NPEO sowohl in Isomere als auch in seine Ethoxymere. Aufgrund der hohen Zahl unterschiedlicher, detektierbarer Peaks war eine Identifizierung der einzelnen Komponenten nur sehr schwer möglich. Es sind noch weitere Anwendungen dieser stationären Phase für die Ethoxymereentrennung bekannt. Neben der Ethoxymereentrennung von NPEO [406, 407] auch eine Trennung von Tributylphenoethoxylaten [280].

Auf die Verwendung von Wasseranteilen in der mobilen Phase wurde von Anfang an bei der Methodenentwicklung verzichtet, was eine einfachere Handhabung der gesammelten Fraktionen ermöglichte, da diese sowohl mit dem NPLC-FLD-System als auch mit dem GC-MS-System untersucht werden sollten. Ebenfalls wurde auf eine Gradientenelution verzichtet, um ein Reäquilibration der Trennsäule zu vermeiden. Bei Anwendung der iso-

kratischen LC stellte sich jedoch heraus, dass es sowohl mit Acetonitril als auch mit Ethanol, von dem als geeignete mobile Phase zur isokratischen Elution berichtet wurde [406], zu sehr langen Trennzeiten kam, da das APEO-Retentionsvermögen einer Hypercarbsäule mit $5\text{ }\mu\text{m}$ Korngröße der Phase und den Dimensionen $100\text{ mm} \times 4\text{ mm}$ I.D. zu hoch war. Die Lösung wurde durch Reduktion auf eine Säulendimension von $10\text{ mm} \times 4\text{ mm}$ I.D. gefunden, da dann lineare Gradienten der Flussrate bis hin zu $5,0\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ möglich waren.



vollständig aufgelöster Peaks auf (s. **Abb. 6.26 a**). Eine nähere Untersuchung der nach **Tabelle 5.14** (s. S. 113) gesammelten Fraktionen 1 bis 3 mit Hilfe von NPLC-FLD und GC-MS ziegte jedoch, dass es sich bei den beiden ersten Fraktionen primär um verschiedene Isomere von NP(EO)₂ handelte (s. **Abb. 6.26 b** und **Abb. 6.26 c**). Die Fraktion 3 bestand neben NP(EO)₂ und NP(EO)₄ hauptsächlich aus NP(EO)₃.

Der Nachweis von APEO mittels GC-MS im positiven EI-Modus ist anhand der intensiven Fragmentionen möglich, die durch Abspaltung eines Pentyl- oder Hexylradikals gebildet werden [94, 320]. Für NPEO sind das [M - 71]⁺- und [M - 85]⁺-Ionen, für OPEO sind das [M - 71]⁺-Ionen [94, 111, 112, 320]. NP(EO)₂ wurde daher anhand der beiden in **Abbildung 6.27** dargestellten Ionen nachgewiesen. Mit Hilfe von RIC der Ionen [NP(EO)_n - C₅H₁₁]⁺ und [NP(EO)_n - C₆H₁₃]⁺ ist eine Identifizierung der einzelnen NPEO-Ethoxymere mit Hilfe der GC-MS einfach möglich (s. **Abb. 6.28**).

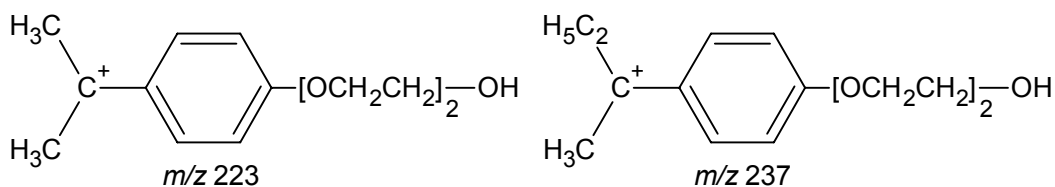


Abbildung 6.27: Charakteristische Ionen zum Nachweis von NP(EO)₂ mittels GC-MS. Die Ionen werden bei positiver EI durch Abspaltung eines Pentyl- bzw. Hexylradikals gebildet und sind wegen ihrer großen Intensität leicht mittels MS zu detektieren.

Im Massenspektrum von APEO können bei der positiven EI auch die Molekülionen M⁺• (s. a. **Abb. 6.30 c**) beobachtet werden, meistens sind sie aber von geringer Intensität [320]. Weitere Ionen korrespondieren entweder mit der Fragmentierung der Alkylgruppe oder mit der Fragmentierung der Polyoxyethylenkette [94, 320]. Das EI-Massenspektrum ist daher auch vom Auftreten des [CH₂CH₂OH]⁺-Ions (*m/z* 45) dominiert [94]. Das wiederkehrende Masseninkrement von 44 entspricht dem Unterschied von einer Oxyethyleneinheit zwischen verschiedenen Oligomeren in Mischungen [94, 111, 112]. Es ist von großem diagnostischen Wert bei der Analyse von APEO-Ethoxymeregemischen mittels GC-MS, wie die **Abbildung 6.28** und die **Abbildung 6.30 b** verdeutlichen.

Der Nachweis der OPEO-Ethoxymere war deutlich schwieriger, da im Gegensatz zu NPEO keine OPEO-Standards mit geringem Ethoxylierungsgrad zur Verfügung standen, so dass die GC-MS an die Grenze ihres Nachweisvermögens gelangte. Um dennoch eine Identifizierung der einzelnen OP(EO)_n zu erreichen, wurden die Fraktionen jedes OPEO-Ethoxymers von zehn Fraktionierungsdurchläufen einer Lösung von 1,144 g · l⁻¹ Triton X-100 jeweils vereinigt.

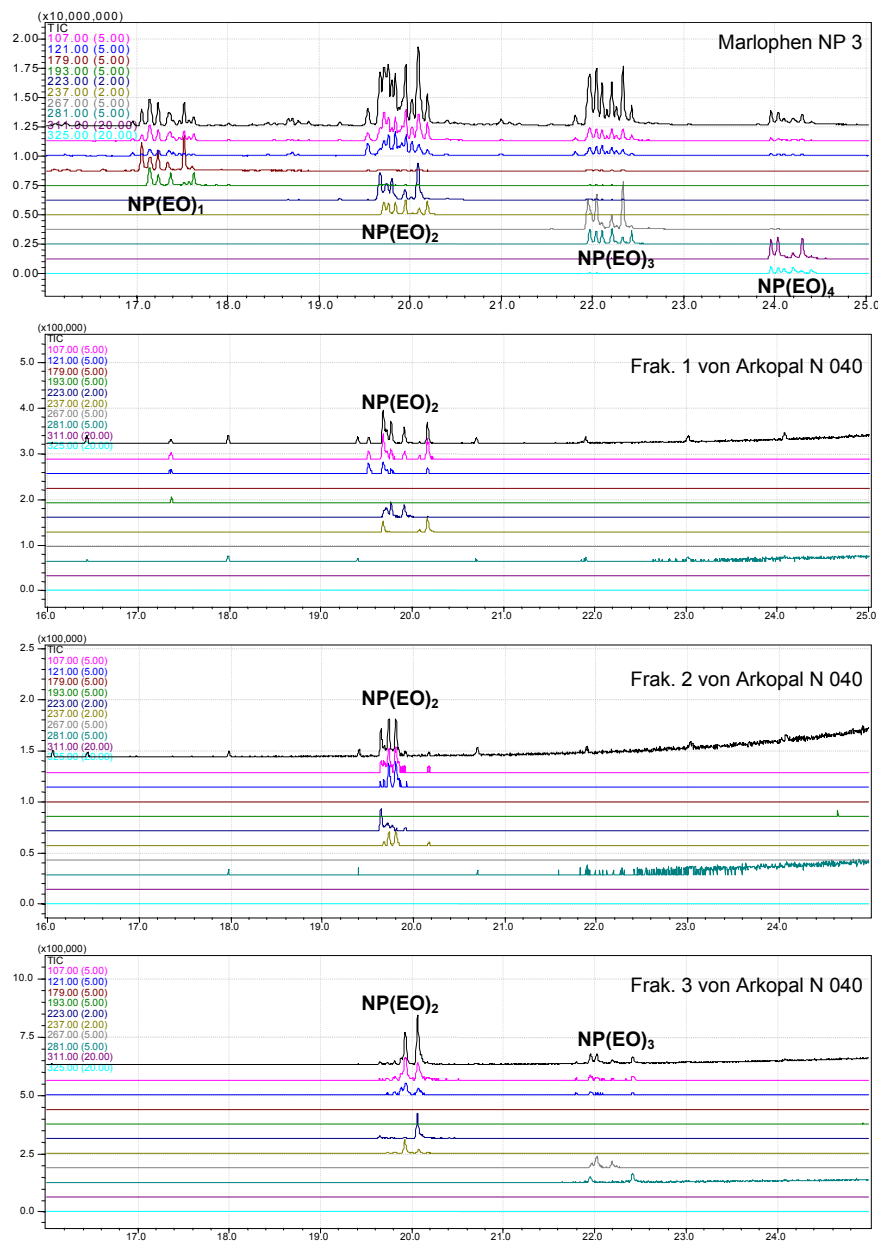


Abbildung 6.28: Identifikation der mit der Adsorptionschromatographie isolierten NPEO-Ethoxymere mit Hilfe der GC-MS. Anhand des TIC und der RIC ist die Auftrennung sowohl in verschiedene Ethoxymere als auch NPEO-Isomere zu erkennen. Neben dem TIC und den RIC für die Ionen m/z 107 und m/z 121 sind die RIC für die Massen dargestellt, die für NP(EO)₁ (m/z 179 und m/z 193), NP(EO)₂ (m/z 223 und m/z 237), NP(EO)₃ (m/z 267 und m/z 281) sowie NP(EO)₄ (m/z 311 und m/z 325) charakteristisch sind. Neben den ersten drei der aus Arkopal N 040 isolierten Fraktionen (s. **Tab. 5.14**) ist eine ethanolische Lösung von $43,9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ Marlophen NP 3 zum Vergleich dargestellt (Methode GC-MS 1, splitless, s. **Tab. 5.22**).

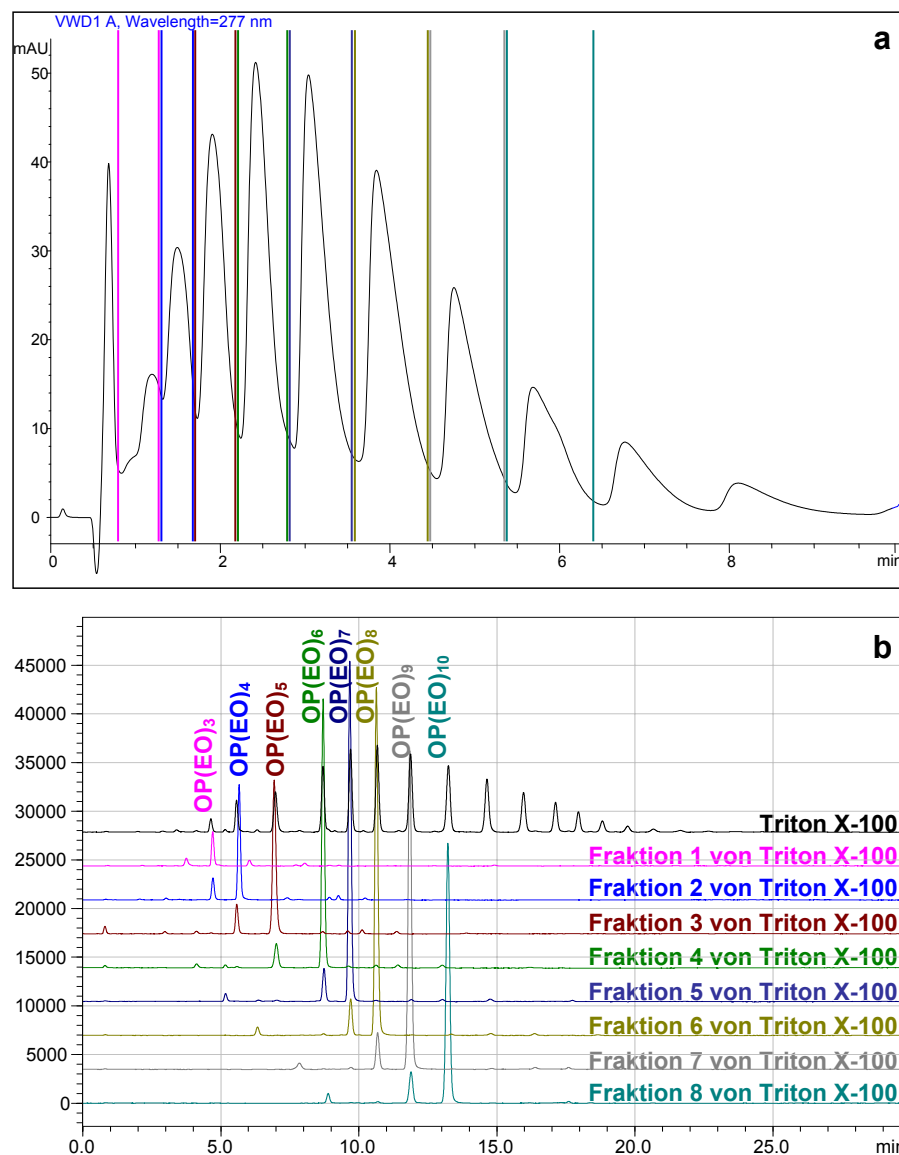


Abbildung 6.29: (a) Isolierung der OPEO-Ethoxymere $OP(EO)_3$ bis $OP(EO)_{10}$ mittels Adsorptionschromatographie (s. Abs. 5.4.4) und (b) Zuordnung der NPEO-Ethoxymere im Chromatogramm der NPLC-FLD (s. Abs. 5.5.5) (weitere Einzelheiten s. Text).

Im Gegensatz zur Adsorptionschromatographie von NPEO konnte für die OPEO-Ethoxymere eine deutlich bessere Auflösung (s. Abb. 6.29 a) erreicht werden, da das Ethoxymeregemisch nur aus jeweils einem Isomer für jedes n_{EO} bestand. Es wurden insgesamt acht Fraktionen gesammelt, die acht unterschiedliche Ethoxymere enthielten (s. Abb. 6.29). Auf diese Weise gelang die Isolierung von $OP(EO)_3$ bis $OP(EO)_{10}$, deren Nachweis mittels GC-MS sich als deutlich schwieriger herausstellte und nur mittels SIM-Modus gelang (s. Abb. 6.30 a). Dabei wurden Gaschromatogramme durch die Summe der Einzelionenströme von m/z 107, m/z 135, m/z 179, m/z 223, m/z 267, m/z 311, m/z 355, m/z 399,

m/z 1443 und m/z 487 gebildet. Die Identifikation der einzelnen $\text{OP}(\text{EO})_n$ erfolgte dann über die Retentionszeiten durch Vergleich mit dem im Full-Scan-Modus aufgezeichneten Chromatogramm von Triton X-100 (s. **Abb. 6.30 b**). Da Totalionenströme für den gesamten Scanbereich aufgezeichnet wurden, war eine zweifelsfreie Identifikation der einzelnen Ethoxymere anhand der RIC der Ionen $[\text{OP}(\text{EO})_n - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$ (s. **Abb. 6.30 b**) und der Massenspektren (s. **Abb. 6.30 c**) möglich und damit eine Zuordnung der Ethoxymere zu den einzelnen Peaks.

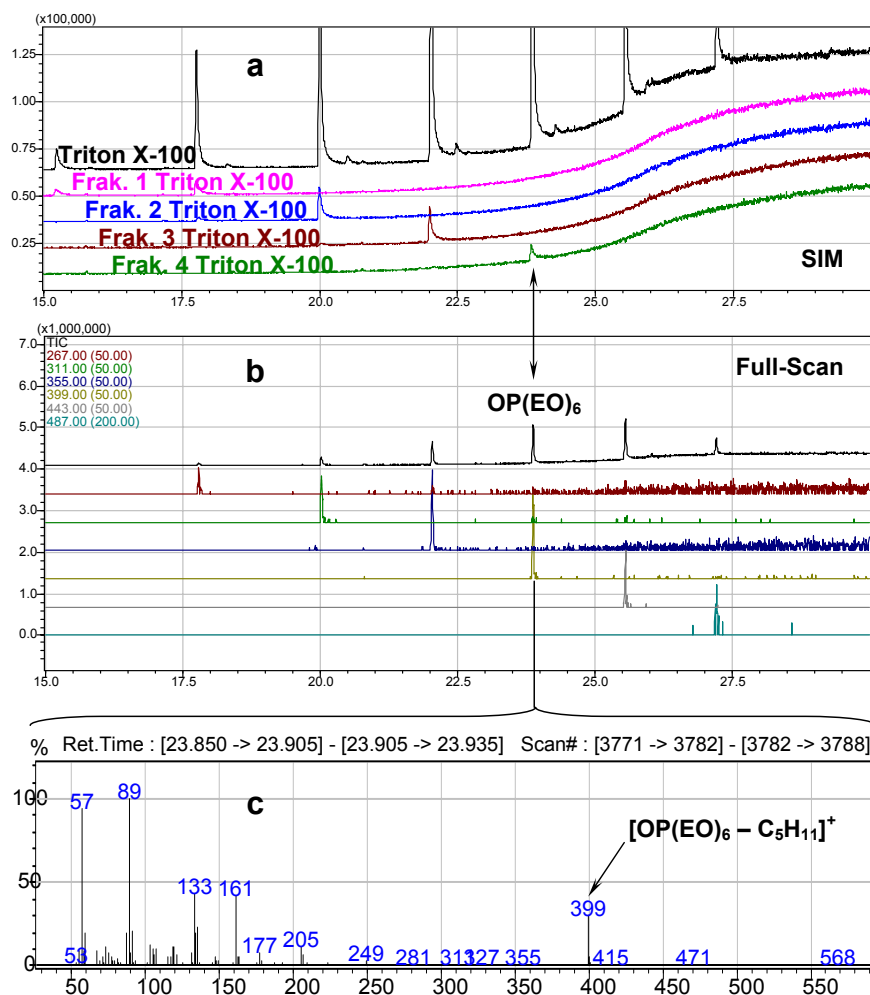


Abbildung 6.30: Identifizierung von OPEO-Ethoxymeren mittels GC-MS am Beispiel von $\text{OP}(\text{EO})_6$: In den im SIM-Modus (Methode GC-MS 2, splitless, Summe der Ionen m/z 107, m/z 135, m/z 179, m/z 223, m/z 267, m/z 311, m/z 355, m/z 399, m/z 1443 und m/z 487) aufgezeichneten Chromatogrammen (a) von Triton X-100 und vierer Fraktionen von Triton X-100 gelingt der Nachweis von $\text{OP}(\text{EO})_6$ in Fraktion 4 über die Retentionszeit, nachdem $\text{OP}(\text{EO})_6$ in dem im Full-Scan-Modus (Methode GC-MS 2, splitless) aufgezeichneten Chromatogramm (b) von Triton X-100 anhand des RIC von m/z 399 und anhand des Massenspektrums (c) identifiziert wurde.

Ein Vergleich von **Abb. 6.29 b** mit **Abb. 6.30 a** zeigt auch die zum Nachweis von APEO um ein vielfaches höhere Empfindlichkeit des HPLC-FLD-Systems im Vergleich zum GC-MS-System eindrucksvoll auf, da die Detektion der APEO mit dem Fluoreszenzdetektor in der geringsten Empfindlichkeitsstufe durchgeführt wurde. Mit Hilfe der angewendeten gaschromatographischen Methoden war lediglich eine Identifikation von APEO mit $n_{EO} \leq 8$ möglich (s. **Abb. 6.30**). Dies gelang jedoch nur unter Verwendung der SolGel-1 ms-Säule, mit der Temperaturprogramme bis zu 350 °C möglich waren (s. Methode GC-MS 2 in **Abs. 5.23**). Die DB-1 ms-Säule war lediglich zur Trennung von APEO mit $n_{EO} \leq 6$ geeignet. Der Einsatz eines MS-Detektors erlaubte jedoch eine zweifelsfreie Identifikation anhand der Massenspektren. Aufgrund der abnehmenden Flüchtigkeit der höheren APEO-Ethoxymere sinkt jedoch die Signalintensität mit steigendem Ethoxylierungsgrad ab, so dass die Empfindlichkeit des GC-MS nicht mehr ausreichte, um APEO mit $n_{EO} > 8$ nachzuweisen.

6.3.3 Isolierung und Nachweis von APEO in PSM

6.3.3.1 Isolierung der APEO-Fraktion aus PSM mittels RPLC

Da kein massenspektrometrischer Detektor für die LC zur Verfügung stand und da ein eindeutiger Nachweis der APEO anhand der Retentionszeiten wegen der ethoxylierungsgradabhängigen Verschiebung der NPEO- und OPEO-Retentionszeiten (s. **Abs. 6.5.1**, z. B. **Abb. 6.53** S. 211) allein nicht möglich war, wurden andere Wege zur zweifelsfreien Identifikation gesucht. Daher fand neben der Analyse aller Proben mit den beiden unabhängigen RPLC-Methoden RPLC 1 (s. **Abs. 5.5.4.1**) und RPLC 2 (s. **Abs. 5.5.4.2**) auch eine Isolierung der APEO-Fraktion aus den zu untersuchenden Proben mit Hilfe der RPLC 1 unter Verwendung des Agilent-HPLC-Systems statt. Mit Hilfe des in **Abs. 5.4.3** beschriebenen Verfahrens wurde die jeweilige APEO-Fraktion direkt aus Lösungen der Proben oder aus den Extrakten der Proben isoliert (s. **Abb. 6.31**). Die mittels des Fraktionensammlers, der retentionszeitabhängig programmiert wurde, gesammelten APEO-Fraktionen konnten, nachdem diese bis zur Trockene eingengt wurden und in *n*-Hexan / 2-Propanol 98:2 (*v/v*) oder Ethanol aufgenommen wurden, den weiteren Analysen zugeführt werden.

Neben der Ermittlung der Ethoxymerenverteilung der isolierten APEO diente die NPLC-FLD auch zu deren Nachweis, da die Verwendung eines Fluoreszenzdetektors bei $\lambda_{ex} = 277\text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300\text{ nm}$ deutlich selektiver für APEO ist als ein UV-Detektor bei $\lambda = 277\text{ nm}$ oder $\lambda = 227\text{ nm}$. Hierzu sei auch auf **Abs. 6.5.3** verwiesen. Außerdem handelt es sich bei der NPLC-FLD um eine für APEO relativ spezifische Methode.

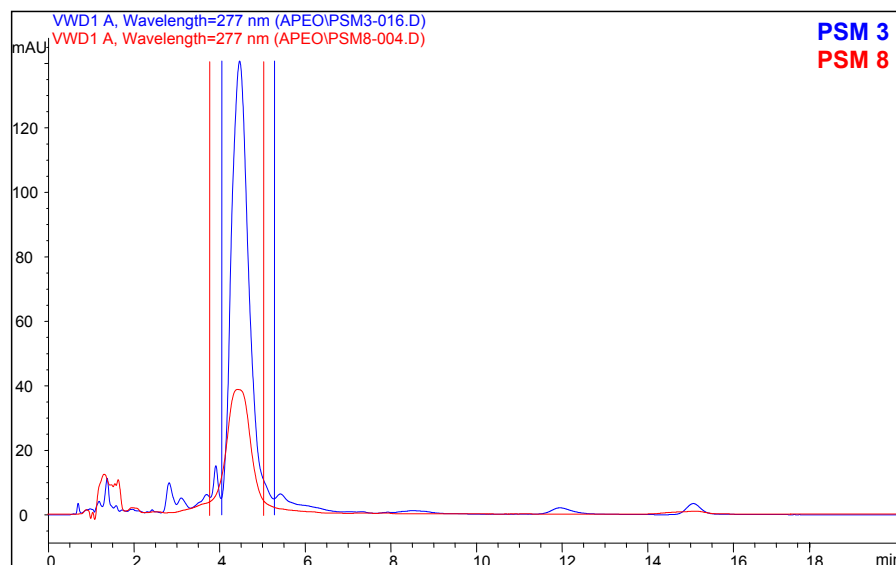


Abbildung 6.31: Isolierung der NPEO-Fraktion mittels RPLC (RPLC 1, Agilent-HPLC, $\lambda = 277$ nm). Das erste Beispiel zeigt, wie die NPEO aus den in 10 ml Ethanol gelösten Extrakten (Wickbold-Methode) von 0,5380 g PSM 3 isoliert wurden, das zweite Beispiel die Isolierung der NPEO-Fraktion aus einer ethanolischen Lösung von $5,151 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 8.

Der Nachweis der NPEO oder OPEO in den isolierten APEO-Fractionen wurde auch mit Hilfe der Massenspektrometrie geführt. Dazu wurden ethanolische Lösungen mittels der GC-MS oder mit Hilfe der MALDI-ToF-MS analysiert. Daneben wurden die in Ethanol löslichen PSM oder ethanolische PSM-Extrakte auch ohne vorherige Fraktionierung mit der MALDI-ToF-MS analysiert, um auch andere Tenside in den PSM identifizieren zu können.

6.3.3.2 Nachweis von APEO in PSM mittels GC-MS

Mit Ausnahme von PSM 3, PSM 7 und PSM 8, deren NPEO-Gehalte oberhalb von 5 % (w/w) lagen, befanden sich in den untersuchten PSM-Formulierungen APEO nur in Konzentrationen unterhalb von 0,5 % (w/w). Während der Untersuchungen stellte sich heraus, dass für verdünnte Lösungen ($c_{\text{PSM}} < 0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) die Empfindlichkeit beider GC-MS-Systeme unzureichend war, um die APEO nachzuweisen. Wurden aber direkt Lösungen der PSM mit höheren Konzentrationen untersucht, so kam es aufgrund des hohen Matrixgehaltes sehr schnell zur Sättigung des MS-Detektors. Um die Matrix zu entfernen, wurden daher Lösungen der PSM im Bereich von $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $7 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bzw. im Fall von PSM 1, PSM 2, PSM 6, PSM 9 und PSM 10 die Extrakte von 0,9 g bis 6 g mit 100 ml Ethanol (s. **Abs. 5.4.2.3**) 15-fach wie in **Abs. 5.4.3** beschrieben fraktioniert und die jeweils vereinigten Fraktionen mittels GC-MS im SIM-Modus unter Verwendung der für die

APEO charakteristischen Massen (s. **Abb. 6.32**) analysiert. Zur genauen Identifikation von APEO anhand von Massenspektren und RIC sei auf das in **Abs. 6.3.2** gesagte verwiesen. Auf diese Weise gelang der Nachweis von NPEO in PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 6, PSM 7 und PSM 8.

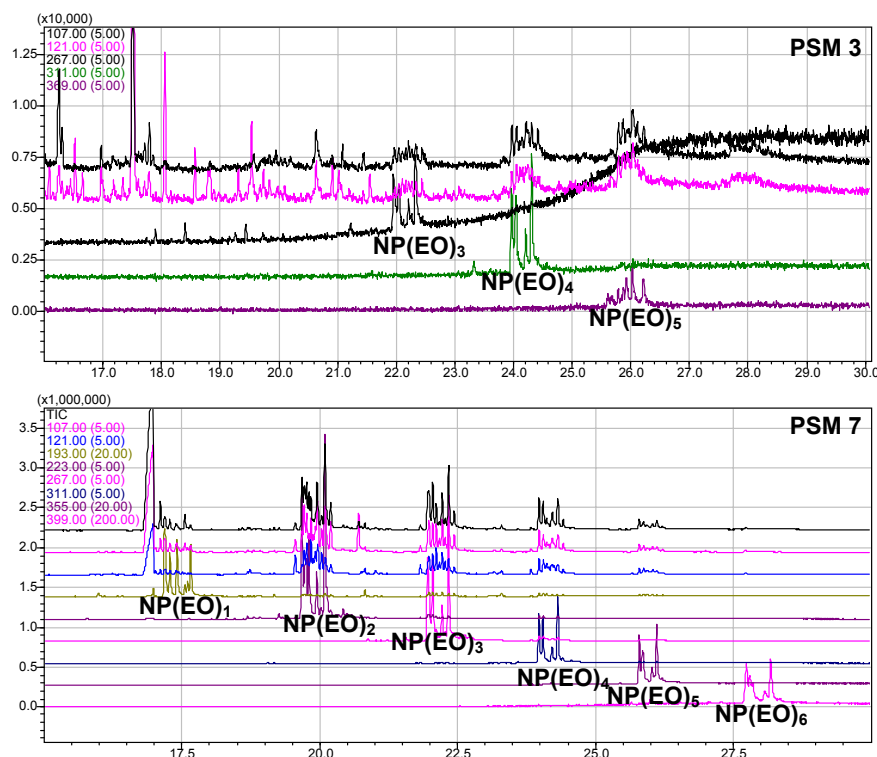


Abbildung 6.32: Beispiele zum Nachweis von APEO in PSM-Formulierungen mittels GC-MS (GC-MS 1, SIM-Modus). Der Nachweis von NPEO in den isolierten APEO-Fractionen von PSM 3 und PSM 7 erfolgte anhand der RIC der charakteristischen Ionen m/z 107, m/z 121 und $[M - C_6H_{13}]^+$ oder $[M - C_5H_{11}]^+$ (weitere Angaben s. Text).

Jedoch gelang mittels GC-MS selbst im SIM-Modus kein eindeutiger Nachweis der OPEO in PSM 2 und PSM 9. Eine Ursache ist hier in der bereits in **Abs. 6.3.2** angesprochenen geringen Nachweisstärke des GC-MS für APEO mit höherem Ethoxylierungsgrad zu sehen. Die mittleren Ethoxylierungsgrade, die für die OPEO von PSM 3 ($\bar{n}_{EO} = 8,7$) und von PSM 9 ($\bar{n}_{EO} = 8,8$) bestimmt wurden, entsprachen in etwa denen von Triton X-100 ($\bar{n}_{EO} = 9,1$). Da der OPEO-Gehalt in beiden Proben $< 0,5\%$ (w/w) war, ließen sich mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht ausreichende Mengen der OPEO isolieren. Außerdem ist eine Identifikation von OPEO am Rande des Nachweisvermögens des GC-MS generell schwieriger als für NPEO, da OPEO im Gegensatz zu NPEO über kein charakteristisches Isomerenmuster verfügt.

In PSM 1 und PSM 10 wurden keine APEO nachgewiesen.

6.3.3.3 Nachweis von APEO in PSM mittels MALDI-ToF-MS

Ein Verfahren, das zur Off-line-Analyse von APEO geeignet ist, ist die MALDI-ToF-MS. Bei dieser Methode wird die Probe zusammen mit einer im Wellenlängenbereich des Lasers absorbierenden Matrix auf ein Metalltarget gebracht und mit einem gepulsten UV-Laser beschossen. Zur Untersuchung von APEO wurden neben anderen Matrices hauptsächlich α -Cyano-4-hydroxymizsäure [26, 27] oder die in dieser Arbeit verwendete 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) [31, 196] verwendet. Dadurch, dass die Matrixmoleküle im Wellenlängenbereich des Lasers Strahlung absorbieren, kommt es zur Aufnahme der durch den Laser übertragenen Energie, so dass es auch zu einer Desorption und Ionisation der Analyten kommt.

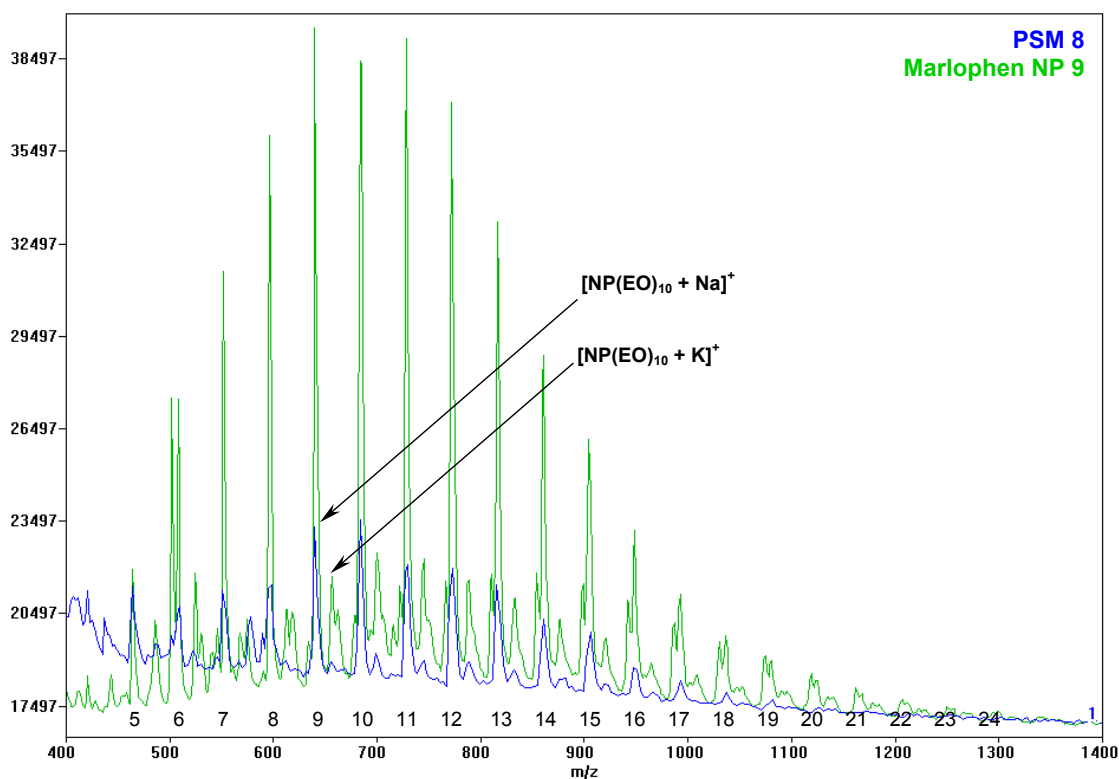


Abbildung 6.33: Flugzeitmassenspektrum von PSM 8. Es können die beiden homologen Reihen der $[M + Na]^+$ - und $[M + K]^+$ -Ionen beobachtet werden, wobei $[M + Na]^+$ eindeutig überwiegt. Zum Vergleich ist das Massenspektrum von Marlophen NP 9 dargestellt, einem reinem NPEO-Tensid. Beide Proben wurden in einer DHB-Matrix untersucht.

Im Gegensatz zur Ionisation bei der EI-MS findet keine Fragmentierung der primär gebildeten Ionen statt, sondern es kommt zur Bildung von Adduktionen. Wenn keine Dotierung der Matrix mit anderen Kationen stattfindet, kommt es primär zur Bildung von $[M + Na]^+$ - und $[M + K]^+$ -Adduktionen, wie diese auch für APEO charakteristisch

sind [26, 27, 196]. Im positiven Ionisationsmodus zeigten sich daher in den Flugzeitmassenspektren von APEO zwei homologe Reihen von kationisierten Molekülen, das Natriumaddukt $[M + \text{Na}]^+$ und das Kaliumaddukt $[M + \text{K}]^+$. Dabei überwiegt $[M + \text{Na}]^+$ eindeutig (s. **Abb. 6.33**). Charakteristisch für Ethoxylate ist dabei das wiederkehrende Masseninkrement von 44, das auf $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ zurückzuführen ist und die Identifikation der APEO erleichtert.

Eine Stärke der MALDI-ToF-MS besteht darin, dass sie zur Untersuchung und Unterscheidung von verschiedenen Glykoletherderivaten wie z. B. den Polyethylenglykolen, NPEO oder OPEO in einem sehr weiten Molekulargewichtsbereich geeignet ist [26, 27, 31, 196], was sie zu einer ausgezeichneten Ergänzung zur NPLC-FLD machte. So sollte sie ebenfalls dazu dienen, neben den APEO auch andere Ethoxylate in den PSM-Formulierungen zu identifizieren, da PSM typischerweise auch z. B. mit Fettalkoholethoxylaten formuliert werden [73, 81]. So ließen sich in PSM3 tatsächlich neben NPEO auch Dodecanoethoxylate nachweisen (s. **Abb. 6.34**)

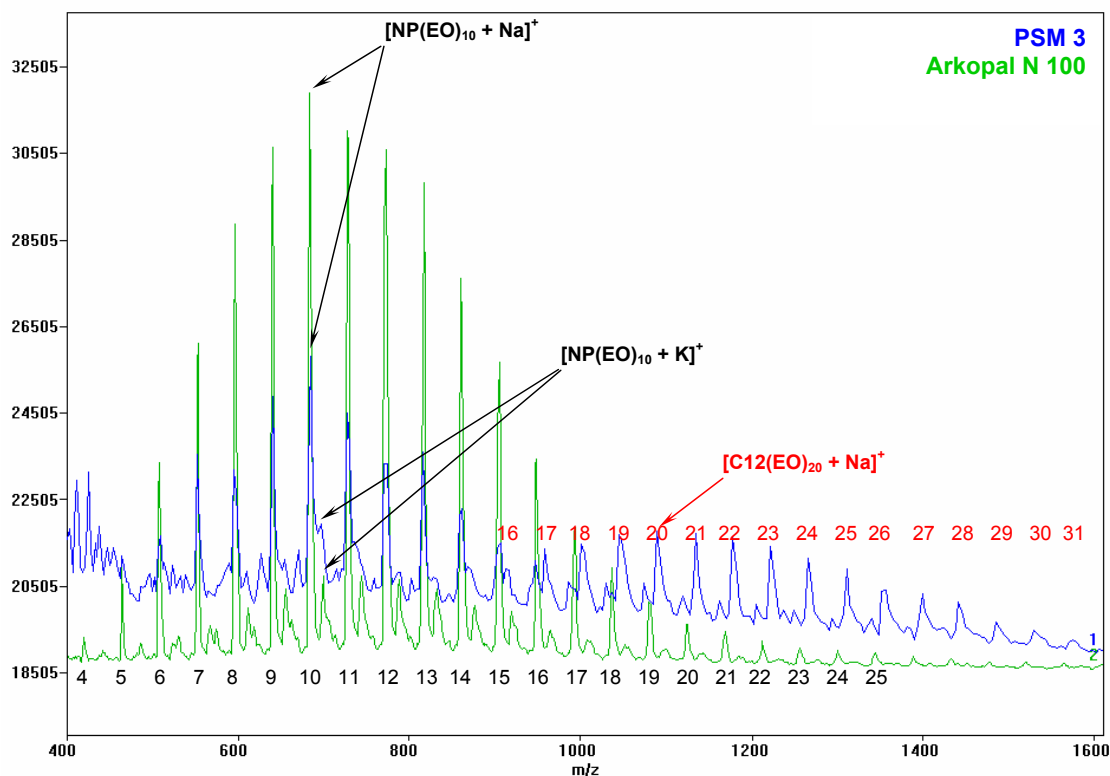


Abbildung 6.34: Nachweis von NPEO und Dodecanoethoxylat (C12EO) in PSM3 mittels MALDI-ToF-MS. Neben der homologen Reihe der $[\text{NP}(\text{EO})_n + \text{Na}]^+$ - und $[\text{NP}(\text{EO})_n + \text{K}]^+$ -Ionen können auch die $[\text{C12}(\text{EO})_n + \text{Na}]^+$ -Ionen beobachtet werden. Zum Vergleich ist das Massenspektrum von Arkopal N 100 dargestellt, einem reinem NPEO-Tensid. Beide Proben wurden in einer DHB-Matrix untersucht.

Soweit diese Ionen nicht speziell hinzugegeben wurden, rührt das Auftreten von Na^+ und K^+ in der Regel von Kontaminationen der Proben oder der Matrix her. Andererseits kann das zusätzliche Dotieren der Matrix mit geeigneten Salzen die Qualität des Ergebnisses verbessern [196]. Daher wurden ergänzend auch Messungen durchgeführt, bei denen die Matrix mit Na^+ , K^+ und Li^+ dotiert wurde, indem ethanolische DHB-Lösungen zur Präparation der Proben verwendet wurden, die Natriumacetat, Kaliumacetat oder Lithiumchlorid in einem Verhältnis von 1:9 (*w/w*) zur Dihydroxybenzoesäure enthielten. Wie in **Abb. 6.35** zu sehen ist, unterbindet der Zusatz von Natriumionen vollständig das Auftreten von $[\text{M} + \text{K}]^+$ -Ionen, wohingegen durch Zusatz von Kaliumionen keine vollständige Unterdrückung der $[\text{M} + \text{Na}]^+$ -Ionen erreicht wird. Allerdings werden die $[\text{M} + \text{K}]^+$ -Ionen die dominante Spezies. Das gezielte Dotieren kann die Interpretation der Flugzeitmassenspektren deutlich erleichtern und haben im Fall von PSM 6 die Identifikation von NPEO abgesichert (s. **Abb. 6.35**).

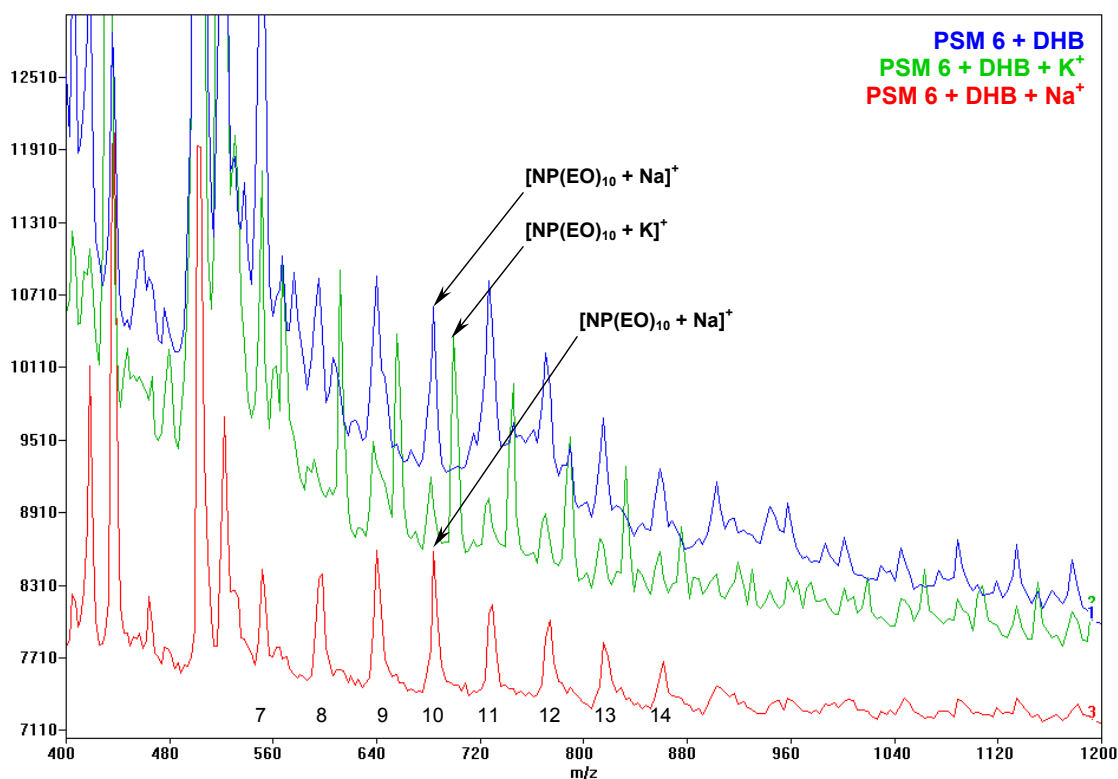


Abbildung 6.35: Absicherung des NPEO-Nachweises in PSM6 mittels MALDI-ToF-MS durch Dotierung mit Natrium- und Kaliumionen. Der Zusatz von Natriumacetat zur DHB-Matrix unterdrückt die $[\text{M} + \text{K}]^+$ -Ionen (rot), der Zusatz von Kaliumacetat verstärkt die Intensität der $[\text{M} + \text{K}]^+$ -Ionen (grün).

Während der Nachweis von NPEO in PSM3, PSM7 und PSM8 aufgrund der hohen Konzentration der NPEO in den Proben von $> 5\%$ (*w/w*) sicher gelang, konnte in PSM6

ein zweifelsfreier Nachweis von NPEO aufgrund der geringen Konzentration von unter 0,5 % (w/w) erst durch gezieltes Dotieren mit Na^+ und K^+ geführt werden.

Im Fall von PSM 2, PSM 4, PSM 5 und PSM 9 gelang dies für PSM 4 und PSM 5 durch Dotieren mit Li^+ (s. **Abb. 6.36**).

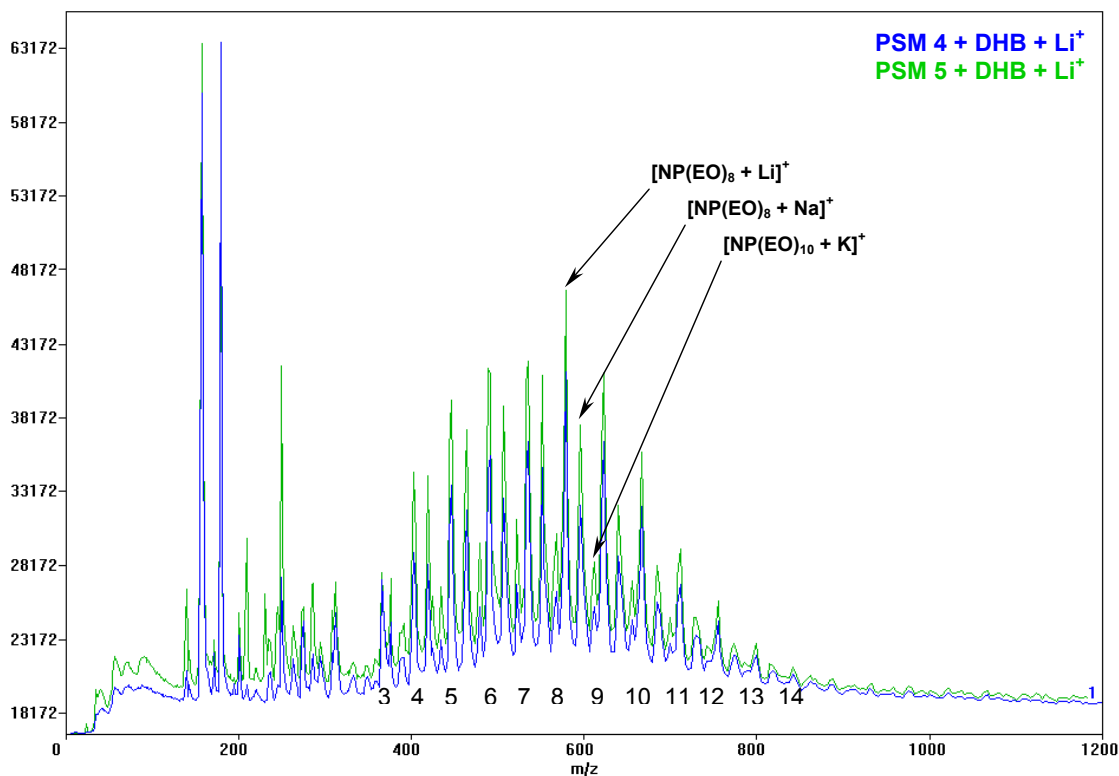


Abbildung 6.36: Absicherung des NPEO-Nachweises in PSM 4 und PSM 5 mittels MALDI-ToF-MS durch Dotierung mit Lithiumionen. Nach Zusatz von LiCl zur DHB-Matrix sind drei homologe Reihen zu sehen, die dominierenden $[\text{M} + \text{Li}]^+$ -Ionen neben den weniger intensiven $[\text{M} + \text{Na}]^+$ - und den $[\text{M} + \text{K}]^+$ -Ionen von geringer Intensität.

Ohne Dotieren mit LiCl kam aufgrund der geringen Konzentrationen ($< 0,5\%$ (w/w)) und dem geringeren Ethoxyierungsgrad der APEO in PSM 4 ($\bar{n}_{\text{EO}} = 4,2$) und PSM 5 ($\bar{n}_{\text{EO}} = 4,0$) der von Just et al. [196] bei der MALDI-ToF-MS berichtete Diskriminierungseffekt der Ionen im unteren Molekulargewichtsbereich ($< 500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) zum Tragen. Sie beschreiben, dass dieser Effekt bei $\bar{n}_{\text{EO}} = 6$ beginnt. Durch Zugabe von LiCl zur DHB-Matrix konnten sie die Diskriminierung bei der Analyse von OPEO, NPEO und Polyethylenglykol mittels MALDI-ToF-MS deutlich reduzieren. Das von Just et al. [196] berichtete Vorkommen von fast ausschließlich $[\text{M} + \text{Li}]^+$ -Ionen nach Dotieren mit LiCl ließ sich jedoch nicht feststellen. Die $[\text{M} + \text{Li}]^+$ -Ionen waren zwar die dominante Spezies im Massenspektrum, es wurden jedoch auch relativ intensive $[\text{M} + \text{Na}]^+$ -Ionen beobachtet

(s. **Abb. 6.36**). Sogar $[M + K]^+$ -Ionen konnten im Flugzeitmassenspektrum identifiziert werden.

In PSM 2 und in PSM 9 gelang der Nachweis der OPEO aufgrund der geringen Konzentration ($< 0,5\%$ (w/w)) jedoch nicht und in PSM 1 und PSM 10 wurden keine APEO mittels MALDI-ToF-MS nachgewiesen.

6.3.3.4 Nachweis der APEO in den Fraktionen mittels NPLC-FLD

Da alle der aus den PSM isolierten APEO-Fraktionen zur Bestimmung der Ethoxymenverteilung mittels NPLC-FLD untersucht wurden, konnte diese gleichzeitig auch als Nachweismethode genutzt werden. Daher wird erst nachfolgend in **Abs. 6.3.4** näher auf die NPLC-FLD-Methode eingegangen. An dieser Stelle sei nur soviel gesagt, dass eine Isolierung der APEO mittels der RPLC 1 für die nachfolgende Bestimmung der Ethoxymenverteilung mittels NPLC-FLD im Vergleich zur direkten Untersuchung von Lösungen der PSM mittels NPLC-FLD den Vorteil hatte, dass durch die Isolierung Matrixstörungen eliminiert werden konnten. Wie die **Abb. 6.37** zeigt, sind die Peaks der beiden Oligomere $NP(EO)_1$ ($t_R = 2,45\text{ min}$) und $NP(EO)_2$ ($t_R = 3,18\text{ min}$) durch Bestandteile der PSM 4-Matrix gestört und daher nur fehlerhaft auswertbar. Es empfiehlt sich aus diesem Grund eine Isolierung der NPEO mittels Fraktionierung durch die RPLC 1-Methode.

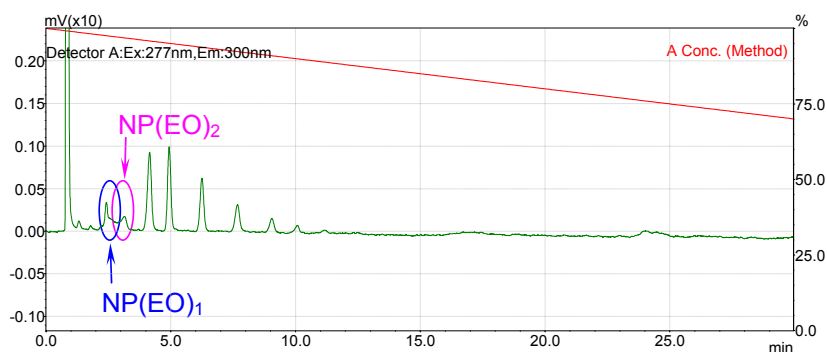


Abbildung 6.37: Störungen der NPLC-FLD-Chromatogramme durch Matrixbestandteile, die auftreten können, wenn die APEO nicht zunächst mittels RPLC 1 aus den PSM isoliert wurden. Das Beispiel zeigt eine Lösung von $177\text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 4 in n -Hexan / 2-Propanol 98:2 (v/v), bei der die Peaks von $NP(EO)_1$ ($t_R = 2,45\text{ min}$) und $NP(EO)_2$ ($t_R = 3,18\text{ min}$) durch Matrixbestandteile gestört sind.

Ferner sollte darauf hingewiesen werden, dass der Nachweis von APEO mit der RPLC, die zur Differenzierung zwischen NPEO und OPEO und zur Isolierung dieser APEO diente, in Kombination mit der NPLC-FLD mit selektiver APEO-Detektion sehr sicher gelingt. So ließen sich z. B. in PSM 4 neben NPEO in einer weiteren mittels RPLC 1 isolierten

Peakfraktion, die dieselbe Retentionszeit wie OPEO aufwies, APEO mittels NPLC-FLD ausschließen (s. **Abb. 6.38**).

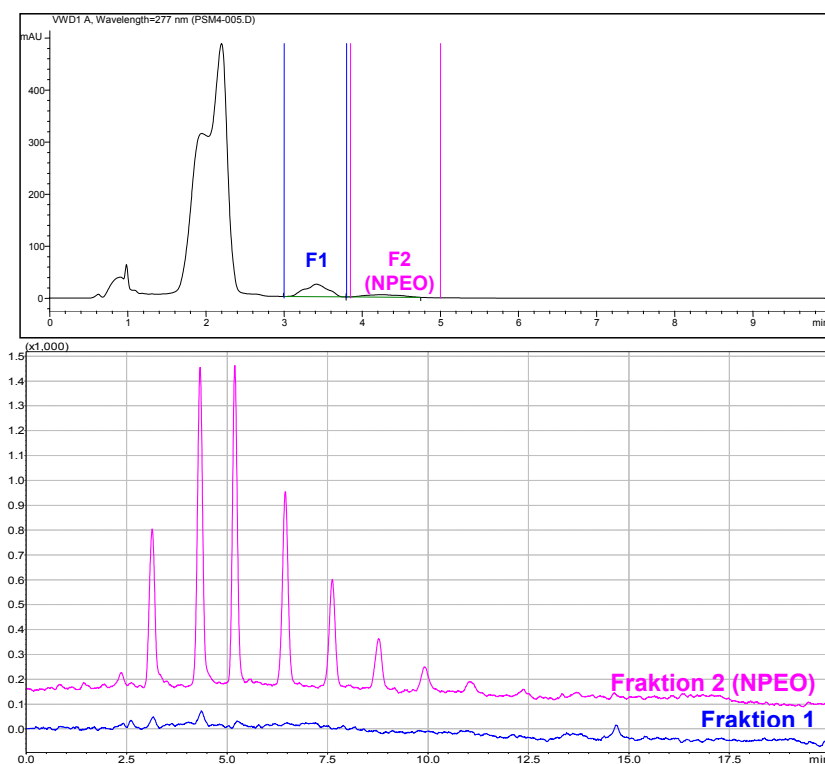


Abbildung 6.38: Überprüfung potenzieller APEO-Fraktionen auf OPEO und NPEO mittels NPLC-FLD. In der ersten Fraktion von PSM4, bei der es sich aufgrund der Retentionszeit des Chromatogramms der RPLC (Abb. oben, RPLC 1, Agilent-HPLC, $\lambda = 277 \text{ nm}$) um OPEO handeln könnte, konnten mittels der NPLC-FLD (Abb. unten) APEO ausgeschlossen werden. In einer zweiten Fraktion wurden NPEO nachgewiesen.

Wichtig bei der Fraktionierung ist die richtige Abstimmung der Start- und Endzeiten des Fraktionensammelns, da es ansonsten zur Diskriminierung von APEO-Oligomeren kommen kann, wie **Abb. 6.39** zeigt. Das mittels NPLC-FLD (s. **Abs. 6.3.4**) direkt in ethanolischer Lösung bestimmte Zahlenmittel der Molmasse ($635 \pm 1 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) weicht signifikant von dem nach Fraktionierung mittels RPLC 1 ($626,7 \pm 0,8 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) bestimmten Wert ab.

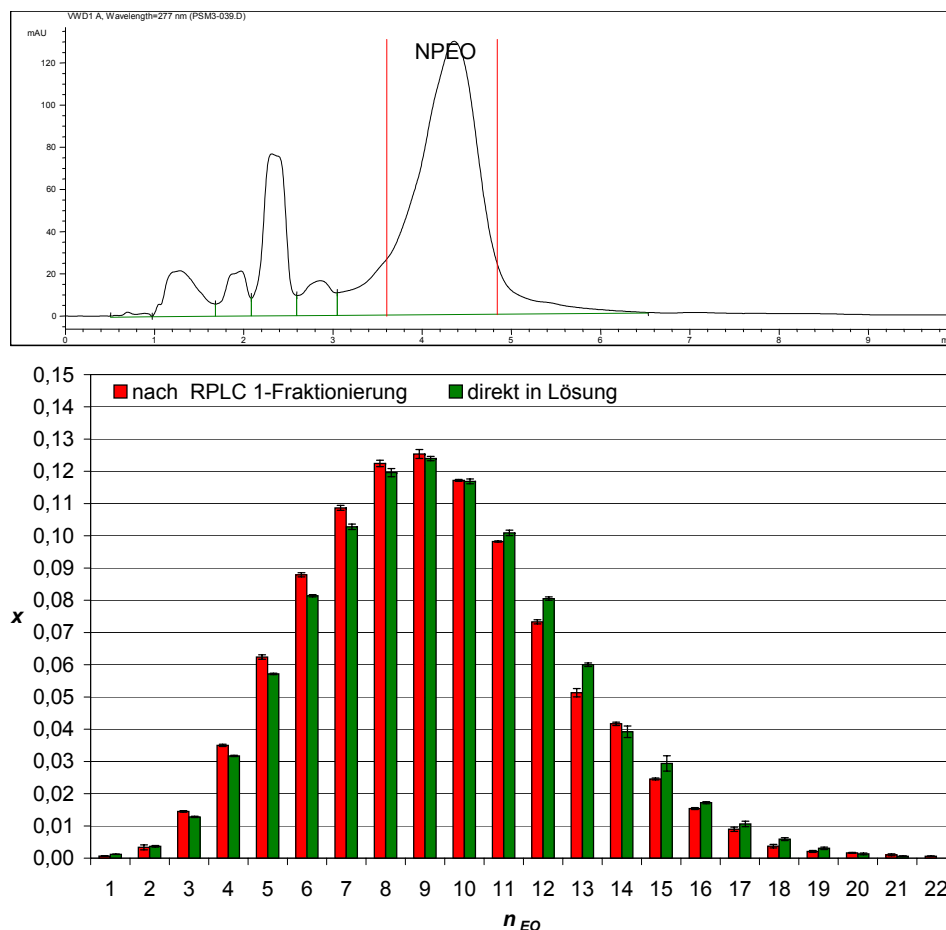


Abbildung 6.39: Diskriminierung von NPEO-Oligomeren bei der Fraktionierung mittels RPLC 1. Die Start- und Endzeiten zur Isolierung der NPEO-Fraktion aus PSM 3 sind nicht richtig gewählt (Abb. oben), da sich die mittels NPLC-FLD ermittelten Stoffmengenanteile für die einzelnen $NP(EO)_n$ in der isolierten NPEO-Fraktion signifikant von den in ethanolischer Lösung bestimmten unterscheiden (Abb. unten).

6.3.4 Bestimmung der Ethoxymereverteilung mittels NPLC-FLD

6.3.4.1 Chromatographische Ethoxymereentrennung von APEO mittels Gradientenelution

Für die Ermittlung der Ethoxymereverteilung der als Standards verwendeten technischen APEO sowie der aus den Proben isolierten APEO war es notwendig, möglichst eine vollständige Auflösung aller APEO-Ethoxymere im gesamten untersuchten Molmassenbereich mittels NPLC-FLD zu erzielen. Da die Güte der Bestimmung der mittleren Molmasse direkten Einfluß auf die quantitative APEO-Bestimmung (s. **Abs. 6.5.5.2**) in

den untersuchten Proben hatte, war Ziel der Methodenoptimierung eine Basislinienauftrennung aller Ethoxymerenpeaks für einen möglichst breiten Molmassenbereich, was mit Hilfe der Flüssigkeitschromatographie nur an Normalphasen mittels Gradientenelution gelingt.

Aminosiloxanphasen haben sich bei der Ethoxymarentrennung mittels NPLC bewährt. Dabei hat die Hypersil APS-Säule, die mit sphärischen 3- oder 5- μm -Aminopropylsilanpartikeln gepackt ist, einen hohen Stellenwert erreicht, da sie bei höherer Auflösung deutlich kürzere Trennzeiten ermöglicht als andere Säulen. Die in dieser Arbeit zur Ethoxymarentrennung der aus den PSM isolierten APEO verwendete stationäre Phase 3 μm Hypersil APS-2 (100 mm x 4 mm I.D.-Säule + 10 mm x 4 mm I.D.-Vorsäule) hat mit diesen oder ähnlichen Dimensionen in zahlreichen Anwendungen ihre Leistungsfähigkeit für dieses Trennproblem bewiesen [3, 4, 5, 6, 8, 14, 164, 251, 253, 257, 323, 330, 331].

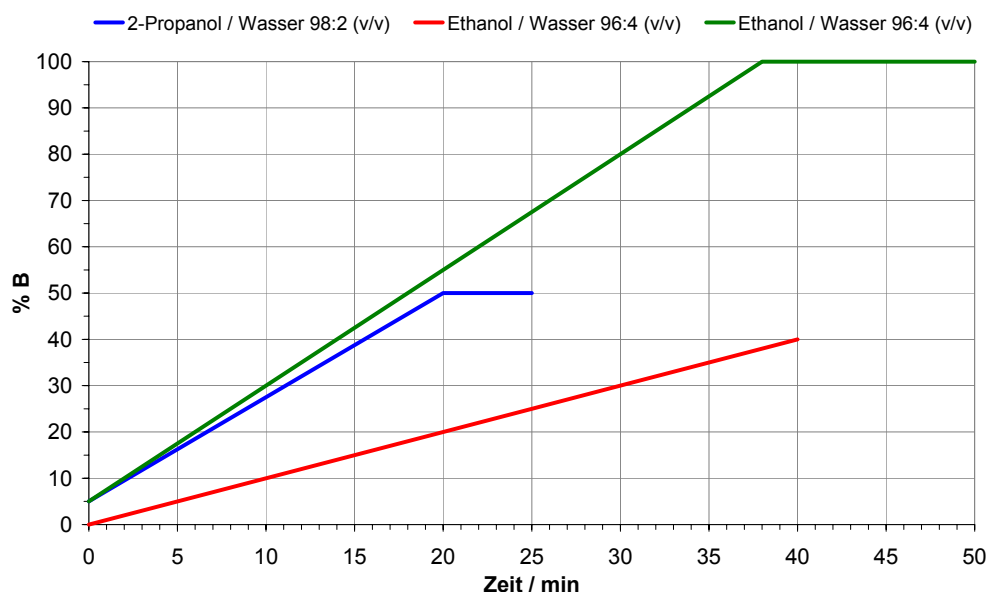


Abbildung 6.40: Für die Ethoxymarentrennung von NPEO und OPEO mittels NPLC-FLD verwendete Gradientensysteme. Es wurde mit n-Hexan / 2-Propanol 98:2 (v/v) (A) und unterschiedlichen Eluenten B sowie verschiedenen linearen Gradienten mit einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und bei 20°C eluiert. Es sind die in dieser Arbeit verwendeten Gradientensysteme (rot und grün) sowie das von Ahel und Giger [4] (blau) verwendete Gradientensystem dargestellt. Die verwendete Säule war eine 3 μm Hypersil APS-2 100 mm x 4 mm I.D.-Säule (+ 10 mm x 4 mm I.D.-Vorsäule).

Der Einsatz der Gradientenelution ist für die Ethoxymarentrennung von APEO mit breiter Ethoxymerenverteilung unverzichtbar. Da mit steigendem Ethoxylierungsgrad die Polarität der APEO stetig ansteigt und somit die Retardierung der APEO an der Aminopropylsilanphase deutlich zunimmt, muss während der linearen Gradientenelution ei-

ne kontinuierliche Polaritätssteigerung der mobilen Phase erreicht werden. Eine ganze Reihe von Lösemittelsystemen für die Gradientenelution an APS-Phasen sind in der Literatur beschrieben, wobei Gradientensysteme aus *n*-Hexan (**A**) und 2-Propanol in *n*-Hexan (**B**) [3, 251, 253, 257] oder 2-Propanol in *n*-Hexan (**A**) und Wasser in 2-Propanol (**B**) [4, 8, 45, 230, 231, 232, 250, 251, 253, 257, 330] weite Verbreitung gefunden haben.

Aufbauend auf diesen publizierten Erfahrungen und zunächst ausgehend von einem Gradientensystem, das Ahel und Giger [4] zur Ethoxymyrentrennung von NPEO und OPEO aus Abwässern verwendet haben, wurde ein Gradientensystem entwickelt, dass den eigenen, oben beschriebenen Anforderungen entsprach. Es stellte sich heraus, dass es bei einer Gradientenelution mit dem von Ahel und Giger [4] beschriebenen System (s. blauer Graph **Abb. 6.40**), also mit einem System aus *n*-Hexan / 2-Propanol 98:2 (*v/v*) (**A**) und 2-Propanol / Wasser 98:2 (*v/v*) (**B**) sowie einem linearen Gradienten von 95 % **A** nach 50 % **A** innerhalb von 20 min bei einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, zu einer ungenügenden Auflösung der Ethoxymere mit $n_{EO} \leq 3$ kommt (s. blauer Graph **Abb. 6.41**).

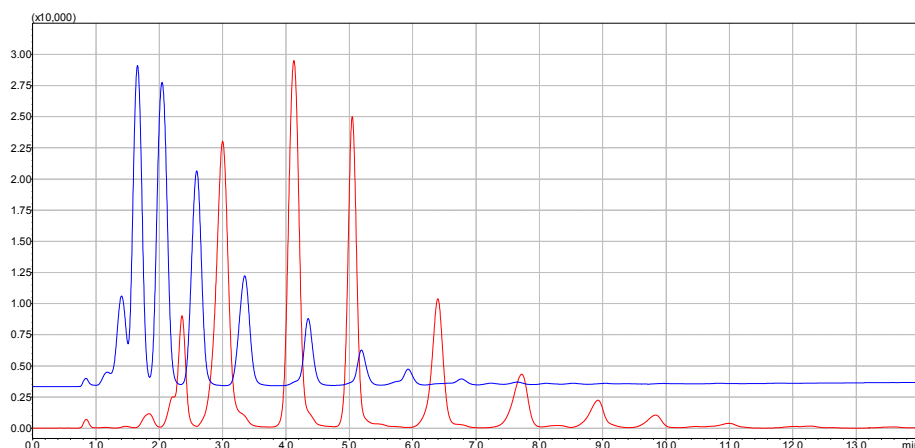


Abbildung 6.41: Ethoxymyrentrennung von Arkopal N 040 ($\bar{n}_{EO} = 3,49$) mittels NPLC-FLD mit verschiedenen Gradientensystemen. Es sind die Chromatogramme einer Lösung von $19,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ dieses NPEO-Tensids in Eluent **A** dargestellt für zwei der in **Abb. 6.40** dargestellten Gradientensysteme unter Verwendung einer $3 \mu\text{m}$ Hypersil APS-2 $100 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Säule (+ $10 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Vorsäule), einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 20°C . Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzdetektor bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$. Weitere Angaben siehe Text.

Der Nachteil dieses zu steilen Gradienten von $2,25 \% \text{ B} \cdot \text{min}^{-1}$ ist eine ungenügende Auflösung der kurzketigen APEO. Günstiger ist es, etwas flachere Gradienten zu verwenden und die Elutionskraft durch eine höhere Polarität des Eluenten **B** zu steigern. Im Fortlauf der Methodenentwicklung kristallisierte sich heraus, dass die Verwendung von Ethanol als Hauptkomponente des Eluenten **B** wegen der im Vergleich zu 2-Propanol

höheren Polarität vorteilhaft ist. Außerdem ließ sich die Polarität durch eine Erhöhung des Wasseranteils auf 4 % (v/v) weiter optimieren, so dass letztendlich eine Gradientenelution mit einer sehr guten Ethoxymymerenauflösung in dem für die untersuchten PSM relevanten Ethoxymymerenbereich erzielt wurde. Es wurde für APEO mit $n_{EO} \leq 23$ mit n-Hexan / 2-Propanol 98:2 (v/v) (**A**) und Ethanol / Wasser 96:4 (v/v) (**B**) unter Verwendung eines Gradienten von 100 % **A** nach 60 % **A** innerhalb von 40 min bei einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 20°C eluiert (s. roter Graph **Abb. 6.40**). Je nach Breite der Ethoxymymerenverteilung konnte auch mit kürzeren Elutionszeiten gearbeitet werden (s. **Tab. 5.20**), dabei wurde immer mit einer Steigung des Gradienten von $1\% \text{ B} \cdot \text{min}^{-1}$ gearbeitet und es wurde die Gradientenelution dementsprechend früher abgebrochen um die Säule zu reäquilibrieren. Mit diesem Gradientensystem war auch eine vollständige Auflösung der APEO-Ethoxymymer mit $n_{EO} \leq 3$ möglich (s. roter Graph **Abb. 6.41**). Darüber hinaus konnten mit diesem Gradientensystem sehr gute Auflösungen über einen weiten Bereich des Ethoxylierungsgrades erreicht werden, wie an dem Beispiel von Arkopal N 100 mit $\bar{n}_{EO} = 9,5$ zu sehen ist (s. roter Graph **Abb. 6.42**). Für solche APEO ist das von Ahel und Giger beschriebene Gradientensystem gleichwertig (s. blauer Graph **Abb. 6.42**)

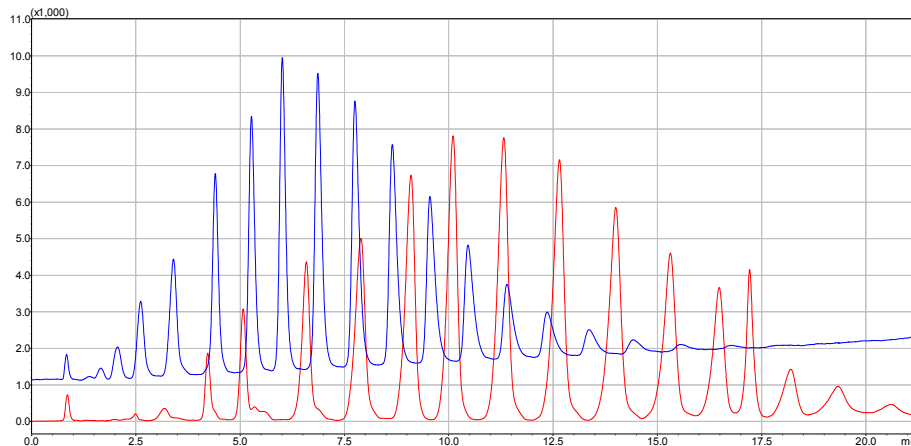


Abbildung 6.42: Ethoxymymerentrennung von Arkopal N 100 ($\bar{n}_{EO} = 9,5$) mittels NPLC-FLD mit verschiedenen Gradientensystemen. Es sind die Chromatogramme einer Lösung von $22,3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ dieses NPEO-Tensids in Eluent **A** dargestellt für zwei der in **Abb. 6.40** dargestellten Gradientensysteme unter Verwendung einer $3 \mu\text{m}$ Hypersil APS-2 $100 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Säule (+ $10 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Vorsäule), einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 20°C . Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzdetektor bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$. Weitere Angaben siehe Text.

Für Ethoxymymerengemische mit deutlich größerem mittleren Ethoxylierungsgrad von $n_{EO} > 15$ ist eine vernünftige Ethoxymymerentrennung nicht mehr mit dem oben beschrie-

benen Gradientensystem mit relativ flachem Gradienten von $1\% \mathbf{B} \cdot \text{min}^{-1}$ zu erreichen (s. roter Graph **Abb. 6.43**). Aufgrund der stärker zunehmenden Peakverbreiterung bei länger werdenden Retentionszeiten kommt es zu einer immer deutlicher nachlassenden Auflösung. Das von Ahel und Giger beschriebene Gradientensystem zeigt eine ebenso schlechte Auflösung für Ethoxymere mit $n_{EO} > 15$ trotz steilerem Gradienten, hier ist die Elutionskraft des Eluenten **B** wegen der geringeren Polarität zu schwach (s. blauer Graph **Abb. 6.43**).

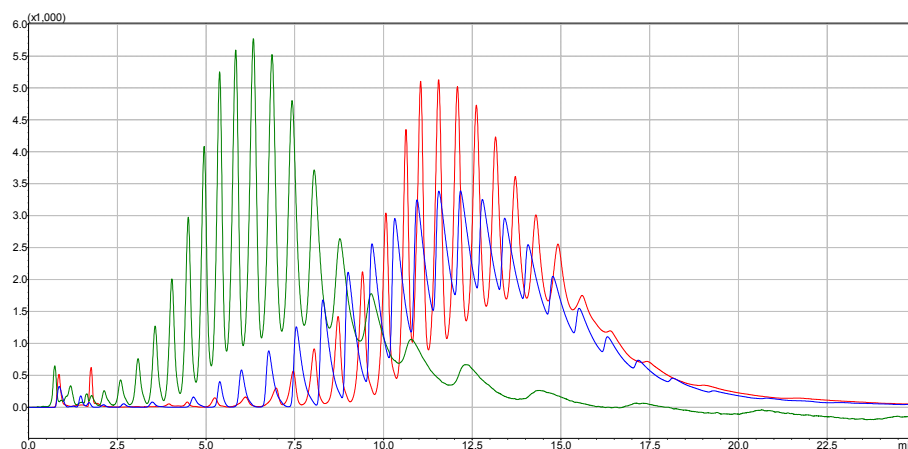


Abbildung 6.43: Ethoxymereentrennung von Arkopal N 200 ($\bar{n}_{EO} = 16,8$) mittels NPLC-FLD mit verschiedenen Gradientensystemen. Es sind die Chromatogramme einer Lösung von $33,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ dieses NPEO-Tensids in Eluent **A** dargestellt für die in **Abb. 6.40** dargestellten Gradientensysteme unter Verwendung einer $3 \mu\text{m}$ Hypersil APS-2 $100 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Säule (+ $10 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Vorsäule), einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 20°C . Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzdetektor bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$. Weitere Angaben siehe Text.

Einer zunehmenden Peakverbreiterung bei den Ethoxymere mit ansteigendem Ethoxylierungsgrad kann nur durch steilere Gradienten oder einen Eluenten **B** mit gesteigerter Polarität entgegengewirkt werden. Damit läßt sich eine Verkürzung der Retentionszeiten für diese Ethoxymere erreichen. Daher wurde bei dem zweiten, in dieser Arbeit verwendeten Gradientensystem (s. grüner Graph **Abb. 6.40**) ein deutlich steilerer Gradient gewählt. Dieses Gradientensystem arbeitet mit denselben Eluenten **A** und **B** aber mit einem Gradienten von $2,5\% \mathbf{B} \cdot \text{min}^{-1}$. Ferner wird, wie bei dem System von Ahel und Giger, die Gradientenelution nicht mit einem Anteil von $0\% \mathbf{B}$ begonnen. Es wird mit n-Hexan / 2-Propanol 98:2 (v/v) (**A**) und Ethanol / Wasser 96:4 (v/v) (**B**) unter Verwendung eines Gradienten von $95\% \mathbf{A}$ nach $0\% \mathbf{A}$ innerhalb von 38 min bei einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 20°C eluiert. Dieses Gradientensystem zeigt eine verbesserte Auflösung für die Ethoxymere mit sehr hohem mittleren Ethoxy-

rungsgrad (s. grüner Graph **Abb. 6.43** und **Abb. 6.44**). Da bei den OPEO im Gegensatz zu den NPEO für jedes Ethoxymere kein Isomerengemisch vorliegt, ist die Auflösung der einzelnen Ethoxymere von Arkopal O 257 (s. **Abb. 6.44**) deutlich besser als für Arkopal N 200 (s. grüner Graph **Abb. 6.43**), da deutlich schmalere Peaks auftreten.

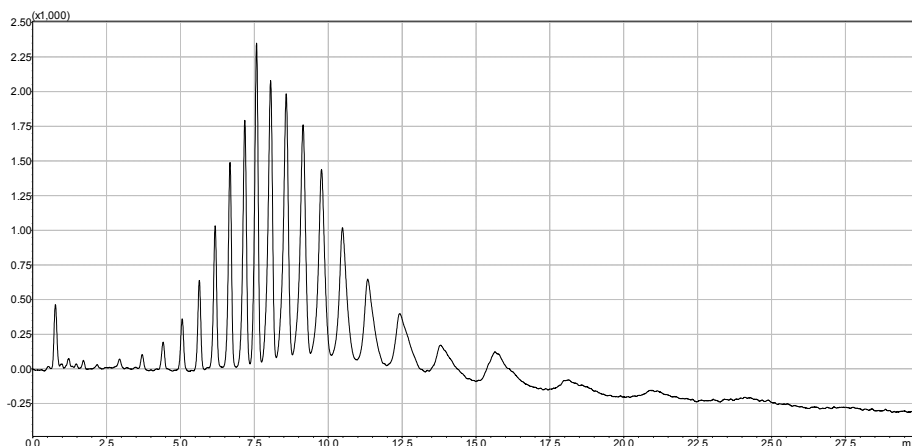


Abbildung 6.44: Ethoxymarentrennung von Arkopal O 257 ($\bar{n}_{EO} = 22,4$) mittels NPLC-FLD mit optimiertem Gradientensystem. Es ist das Chromatogramm einer Lösung von $14,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ dieses OPEO-Tensids in Eluent **A** dargestellt für die Elution mit n-Hexan / 2-Propanol 98:2 (v/v) (**A**) und Ethanol / Wasser 96:4 (v/v) (**B**) unter Verwendung eines Gradienten von 95 % **A** nach 0 % **A** innerhalb von 38 min bei einer Flussrate von $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 20°C . Es wurde eine $3 \mu\text{m}$ Hypersil APS-2 $100 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Säule (+ $10 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.-Vorsäule) verwendet und mittels Fluoreszenzdetektor bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$ detektiert. Weitere Angaben siehe Text.

Dennoch kommt es bei den Ethoxymeren mit sehr hohem Ethoxylierungsgrad zu einer extremen Peakverbreiterung und somit sehr flachen Peaks. Diese kann so weit reichen, dass es zu einer Diskriminierung der Ethoxymere mit den höchsten Ethoxylierungsgraden kommt, da diese wegen der zu starken Peakverbreiterung keine genügende Intensität mehr aufweisen (s. **Abb. 6.44**). Eine weitere Steigerung der Elutionskraft des Eluenten **B** durch Polaritätserhöhung war nicht möglich, da es durch Erhöhen des Wasseranteils in Eluent **B** zu Mischungslücken im System n-Hexan / 2-Propanol / Ethanol / Wasser kam. Noch steilere Gradienten oder höhere Anfangsgehalte von Eluent **B** führten aber zu deutlichen Einbußen der Auflösung der kurzketigen APEO. Aufgrund der ungenügenden Auflösung konnte die Ethoxymerenverteilung von Arkopal N 200 und Arkopal O 257 nicht mittels NPLC-FLD durchgeführt werden. Die Bestimmung der Ethoxymerenverteilung war aber für alle übrigen APEO-Produkte und die aus den PSM isolierten APEO mit Hilfe der NPLC-FLD möglich.

Für die NPLC-Trennungen wurde ausschließlich das Shimadzu-HPLC 1-System verwendet, da es als einziges über einen Fluoreszenzdetektor verfügte, der für die Gradientenelution wegen einer stabileren Basislinie aufgrund der höheren Selektivität gegenüber einer UV-Absorptionsdetektion Vorteile aufwies. Alle Untersuchungen die mittels des Fluoreszenzdetektors durchgeführt wurden, fanden bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{ex} = 300 \text{ nm}$ statt. Zur Detektion von APEO mittels Fluoreszenzdetektor wird im Rahmen der Beschreibung der RPLC ausführlich eingegangen. Das dort Gesagte gilt auch für die NPLC-FLD. Daher sei auf **Abs. 6.5.2.2** verwiesen, ebenso wie auf **Abs. 6.5.2.1**, der sich mit der UV-Absorptionsdetektion von APEO ausführlich beschäftigt.

6.3.4.2 Zuordnung der Ethoxymere zu den Peaks in den Chromatogrammen

Die Identifizierung der einzelnen APEO-Ethoxymere kann bei der NPLC Schwierigkeiten bereiten, da gerade bei einer breiten Molekulargewichtsverteilung der APEO in der Probe eine eindeutige Zuordnung der Peaks in den Chromatogrammen nicht immer anhand der Retentionszeiten ohne weiteres möglich ist.

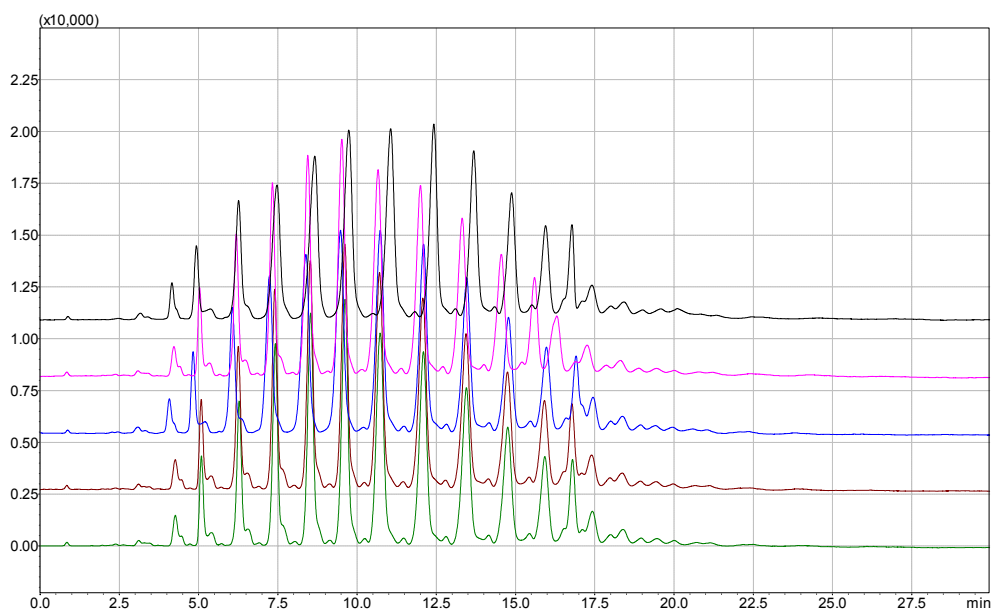


Abbildung 6.45: Verschiebung der Retentionszeiten bei ungenügender Äquilibration der NPLC-Säule zwischen den Gradientenelutionen. Es sind fünf aufeinander folgende Ethoxymereentrennungen der mittels RPLC1 isolierten NPEO-Fraktion der nach Wickbold aus PSM 3 extrahierten Tenside dargestellt.

Eine Zuordnung der APEO-Ethoxymere zu den Peaks in den Chromatogrammen der Gradienten-NPLC-FLD kann durch Aufstocken der Lösungen mit einer ausreichenden Menge eines einzelnen APEO-Ethoxymers erfolgen [21, 180, 312, 323]. Diese Vorgehens-

weise ist sicherer als ein wie in **Abb. 6.26 c** und **Abb. 6.29 b** gezeigter Vergleich der Retentionszeiten der Proben mit denen von Referenzlösungen einzelner Ethoxymere, da es bei ungenügender Äquilibration der chromatographischen Säule zwischen den einzelnen Gradientenelutionen zu Verschiebungen der Retentionszeiten kommen kann (s. **Abb. 6.45**).

In allen Fällen, bei denen eine Zuordnung der Peaks nicht eindeutig anhand des Vergleiches mit den Chromatogrammen der Referenzlösungen einzelner Ethoxymere möglich war, wurden daher die Proben mit geeigneten Ethoxymeren aufgestockt. In **Abb. 6.46** ist der mit $\text{OP}(\text{EO})_9$ aufgestockte ethanolische Extrakt von PSM 9 dargestellt. Dazu wurde der Extrakt, der mittels Fest-Flüssig-Extraktion (Schüttelmethode) von 0,6102 g PSM 9 mit 100 ml Ethanol gewonnen wurde, im Verhältnis 1:25 (v/v) mit der Fraktion 7 von Triton X-100 (s. **Abb. 5.14 Abs. 5.4.4 S. 113**) verdünnt. Auf diese Weise ist der Peak mit $n_{\text{EO}} = 9$ markiert. Eine Zuordnung der übrigen Peaks ist dann einfach möglich, da die Homologen in der Reihenfolge aufsteigender Ethoxylierungsgrade eluiert werden.

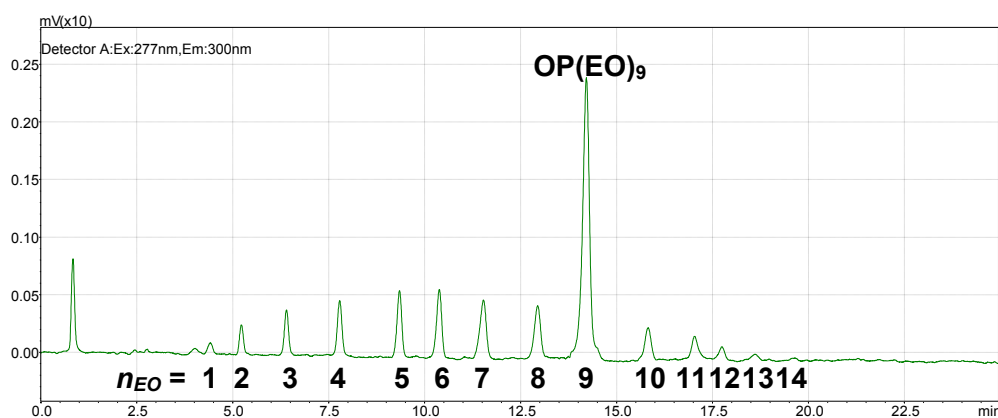


Abbildung 6.46: NPLC-FLD-Chromatogramm des mit $\text{OP}(\text{EO})_9$ aufgestockten ethanolischen PSM 9-Extraktes. Durch die Aufstockung gelingt die Markierung des Peaks mit $n_{\text{EO}} = 9$. Weitere Angaben siehe Text.

6.3.4.3 Ermittlung der Ethoxymerenverteilung, der mittleren Molmassen und der Ethoxylierungsgrade aus den Chromatogrammen

Eine direkte Korrelation zwischen dem Ethoxylierungsgrad der einzelnen Ethoxymere und der Peakfläche, des mittels Fluoreszenzdetektors oder UV-Detektors aufgezeichneten NPLC-Chromatogramms, ist möglich [3,4,312], so dass für die NPLC unter Verwendung relativer Responsefaktoren für die einzelnen Ethoxymere mit geeigneten kommerziell leicht verfügbaren Ethoxymermischungen kalibriert werden kann. Relative Responsefaktoren können bezogen auf die Summe aller Ethoxymere [398], in Relation zu einem einzelnen Ethoxymer [187] oder unter Verwendung eines Standards wie 2,4,6-Trimethylphenol [3,4,414] ermittelt werden.

Die Ethoxymereverteilung der als Standards verwendeten technischen APEO sowie der aus den Proben isolierten APEO wurde nach Trennung der Ethoxymere mittels NPLC-FLD aus den Chromatogrammen ermittelt. Wie von Wang und Fingas [398] beschrieben, kann der Stoffmengenanteil x_i für die Ethoxymere i mit derselben Anzahl $n_{EO,i}$ an Oxyethylengruppen anhand der Peakflächen $A_{Peak,i}$ unmittelbar aus dem Chromatogramm der jeweils untersuchten APEO-Lösung ermittelt werden:

$$x_i = \frac{n_i}{\sum_{j=1}^L n_j} = \frac{A_{Peak,i}}{\sum_{j=1}^L A_{Peak,j}} \quad (6.12)$$

Die Molmasse M_i eines einzelnen OPEO-Ethoxymers mit $n_{EO,i}$ Oxyethylengruppen lässt sich berechnen nach:

$$M_{OPEO,i} = (206,33 + n_{EO,i} \cdot 44,05) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (6.13)$$

Analog gilt für ein einzelnes NPEO-Ethoxymere:

$$M_{NPEO,i} = (220,35 + n_{EO,i} \cdot 44,05) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (6.14)$$

Aus den Stoffmengenanteilen sowie den Molmassen M_i für die einzelnen APEO-Ethoxymere lässt sich dann das Zahlenmittel der Molmasse M_n für die untersuchte APEO-Lösung ermitteln gemäß:

$$M_n = \sum_{i=1}^N (x_i \cdot M_i) \quad (6.15)$$

Um die Massenmittel der Molmassen der untersuchten APEO zu berechnen, müssen zunächst die einzelnen Massenanteile w_i der Ethoxymere i mit derselben Anzahl $n_{EO,i}$ an Oxyethylengruppen in der jeweils untersuchten APEO-Lösung bestimmt werden. Für den Massenanteil gilt:

$$w_i = \frac{x_i \cdot M_i}{\sum_{j=1}^L (x_j \cdot M_j)} = \frac{x_i \cdot M_i}{M_n} \quad (6.16)$$

Mit Hilfe der Massenanteile sowie der Molmassen für die einzelnen APEO-Ethoxymere lässt sich dann folgendermaßen das Massenmittel der Molmasse ermitteln:

$$M_w = \sum_{i=1}^N (w_i \cdot M_i) = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i \cdot M_i^2)}{M_n} \quad (6.17)$$

Zur Charakterisierung von APEO kann ebenfalls der Ethoxylierungsgrad, der für jedes Ethoxymere i als die Anzahl $n_{EO,i}$ der Oxyethylengruppen pro Molekül definiert ist, herangezogen werden. Das Zahlenmittel des Ethoxylierungsgrades lässt sich wie folgt bestimmen:

$$n_{EO,n} = \sum_{i=1}^N (x_i \cdot n_{EO,i}) \quad (6.18)$$

Das Zahlenmittel $n_{EO,n}$ entspricht dem in **Gl. 2.2** (s. S. 5) definierten mittleren Ethoxylierungsgrad \bar{n}_{EO} , denn:

$$\begin{aligned}
 n_{EO,n} &= \sum_{i=1}^N (x_i \cdot n_{EO,i}) \\
 &= \frac{\sum_{i=1}^N (n_i \cdot n_{EO,i})}{\sum_{j=1}^L n_j} \\
 &= \frac{\sum_{i=1}^N (n_i \cdot n_{EO,i} \cdot N_A)}{\sum_{j=1}^L (n_j \cdot N_A)} \\
 &= \frac{\sum_{i=1}^N (N_{APEO,i} \cdot n_{EO,i})}{\sum_{j=1}^L N_{APEO,j}} \\
 &= \frac{\sum_{i=1}^N N_{EO,i}}{\sum_{j=1}^L N_{APEO,j}} \\
 &= \bar{n}_{EO}
 \end{aligned} \tag{6.19}$$

Analog zu **Gl. 6.18** gilt für das Massenmittel:

$$n_{EO,w} = \sum_{i=1}^N (w_i \cdot n_{EO,i}) = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i \cdot M_i \cdot n_{EO,i})}{M_n} \tag{6.20}$$

Zur Charakterisierung der Breite der Ethoxymerenverteilung kann der Polydispersitätsindex verwendet werden, der als Quotient aus dem Massenmittel und dem Zahlenmittel der Molmasse definiert ist:

$$\text{PDI} := \frac{M_w}{M_n} \tag{6.21}$$

Je größer der PDI ist, desto breiter ist die Ethoxymerenverteilung, da M_w und M_n weiter auseinander liegen. Für APEO-Ethoxymere mit demselben Ethoxylierungsgrad ergibt sich wegen $M_w = M_n$ ein PDI von eins.

Mit Ausnahme von Arkopal N200 und Arkopal O257 konnten für alle in **Tabelle 5.2.1** (s. S. 101) angegebenen APEO, die teilweise zur Kalibrierung der RPLC und für die Aufstockungsexperimente verwendet wurden, aus den NPLC-FLD-Chromatogrammen die in **Tabelle 6.7** angegebenen Kenndaten ermittelt werden.

Tabelle 6.7: Mittels NPLC-FLD ermittelte Kenndaten der untersuchten APEO-Tenside. Die Kenndaten sind für Mehrfachbestimmungen mit $N = 5$ angegeben.

Handelsname	APEO- Typ	M_n ($g \cdot mol^{-1}$)	M_w ($g \cdot mol^{-1}$)	$n_{EO,n}$ ($= \bar{n}_{EO}$)	$n_{EO,w}$	PDI
Arkopal N 040	NPEO	$374,1 \pm 1,0$	390 ± 1	$3,49 \pm 0,02$	$3,86 \pm 0,03$	$1,043 \pm 0,004$
Arkopal N 060	NPEO	465 ± 2	490 ± 2	$5,56 \pm 0,04$	$6,12 \pm 0,05$	$1,054 \pm 0,006$
Arkopal N 100	NPEO	641 ± 7	674 ± 9	$9,5 \pm 0,2$	$10,3 \pm 0,2$	$1,05 \pm 0,02$
Arkopal O 100	OPEO	609 ± 1	639 ± 2	$9,14 \pm 0,03$	$9,82 \pm 0,04$	$1,049 \pm 0,004$
Arkopal O 167	OPEO	893 ± 3	924 ± 4	$15,60 \pm 0,06$	$16,3 \pm 0,1$	$1,035 \pm 0,006$
Marlophen [®] NP 3	NPEO	347 ± 1	359 ± 2	$2,87 \pm 0,03$	$3,16 \pm 0,05$	$1,035 \pm 0,006$
Marlophen [®] NP 6	NPEO	475 ± 1	502 ± 2	$5,78 \pm 0,03$	$6,39 \pm 0,04$	$1,057 \pm 0,005$
Marlophen [®] NP 9	NPEO	617 ± 2	650 ± 2	$9,01 \pm 0,04$	$9,75 \pm 0,05$	$1,053 \pm 0,005$
Marlophen [®] NP 12	NPEO	713 ± 3	747 ± 3	$11,18 \pm 0,07$	$11,95 \pm 0,06$	$1,048 \pm 0,006$
Marlophen [®] NP 15	NPEO	848 ± 3	879 ± 3	$14,26 \pm 0,06$	$14,96 \pm 0,07$	$1,037 \pm 0,005$
Triton X-100	OPEO	608 ± 2	644 ± 2	$9,13 \pm 0,04$	$9,93 \pm 0,04$	$1,059 \pm 0,005$

Für die APEO, die aus den PSM isoliert wurden, sind die mittels NPLC-FLD ermittelten Kenndaten in **Tabelle 6.8** angegeben.

Tabelle 6.8: Mittels NPLC-FLD ermittelte Kenndaten der APEO in den untersuchten PSM. Die Kenndaten sind für Mehrfachbestimmungen mit $N = 5$ angegeben.

Probe	APEO Typ	M_n ($g \cdot mol^{-1}$)	M_w ($g \cdot mol^{-1}$)	$n_{EO,n}$ ($= \bar{n}_{EO}$)	$n_{EO,w}$	PDI
PSM 2 (WG)	OPEO	589 ± 2	618 ± 7	$8,7 \pm 0,1$	$9,3 \pm 0,2$	$1,07 \pm 0,02$
PSM 3 (EC)	NPEO	635 ± 2	667 ± 3	$9,41 \pm 0,04$	$10,13 \pm 0,06$	$1,077 \pm 0,006$
PSM 4 (EC)	NPEO	407 ± 7	422 ± 9	$4,2 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,2$	$1,09 \pm 0,05$
PSM 5 (EC)	NPEO	397 ± 3	410 ± 3	$4,01 \pm 0,06$	$4,30 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,01$
PSM 6 (SC)	NPEO	614 ± 7	646 ± 9	$9,0 \pm 0,2$	$9,7 \pm 0,2$	$1,08 \pm 0,02$
PSM 7 (EC)	NPEO	$377,7 \pm 0,9$	394 ± 1	$3,57 \pm 0,02$	$3,95 \pm 0,03$	$1,106 \pm 0,008$
PSM 8 (EC)	NPEO	626 ± 2	654 ± 2	$9,21 \pm 0,05$	$9,84 \pm 0,05$	$1,068 \pm 0,005$
PSM 9 (WG)	OPEO	593 ± 3	618 ± 4	$8,78 \pm 0,07$	$9,3 \pm 0,1$	$1,06 \pm 0,01$

Die Untersuchung der APEO-Ethoxymereverteilung in den PSM (s. **Abb. 6.47**) ergab, dass die beiden wasserdispergierbaren Granulate PSM 2 und PSM 9 mit OPEO formuliert waren, die sehr ähnliche Eigenschaften aufwiesen. Es handelte es sich bei diesen OPEO um Tenside mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad um $\bar{n}_{EO} = 8,7$. Zur Formulierung des Suspensionskonzentrates PSM 6 wurden NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,0$ verwendet. Die emulgierbaren Konzentrate lassen sich in zwei Gruppen einteilen. Die erste Gruppe, gebildet aus PSM 4,

PSM 5 und PSM 7, enthielt NPEO-Tenside mit geringer Ethoxylatkettenlänge ($\bar{n}_{EO} = 3,5$ bis $\bar{n}_{EO} = 4,2$), die zweite Gruppe, bestehend aus PSM 3 und PSM 8, war mit NPEO mit höherer mittlerer Molmasse formuliert. Der Ethoxylierungsgrad dieser Tenside betrug im Mittel zwischen $\bar{n}_{EO} = 9$ und $\bar{n}_{EO} = 9,5$.

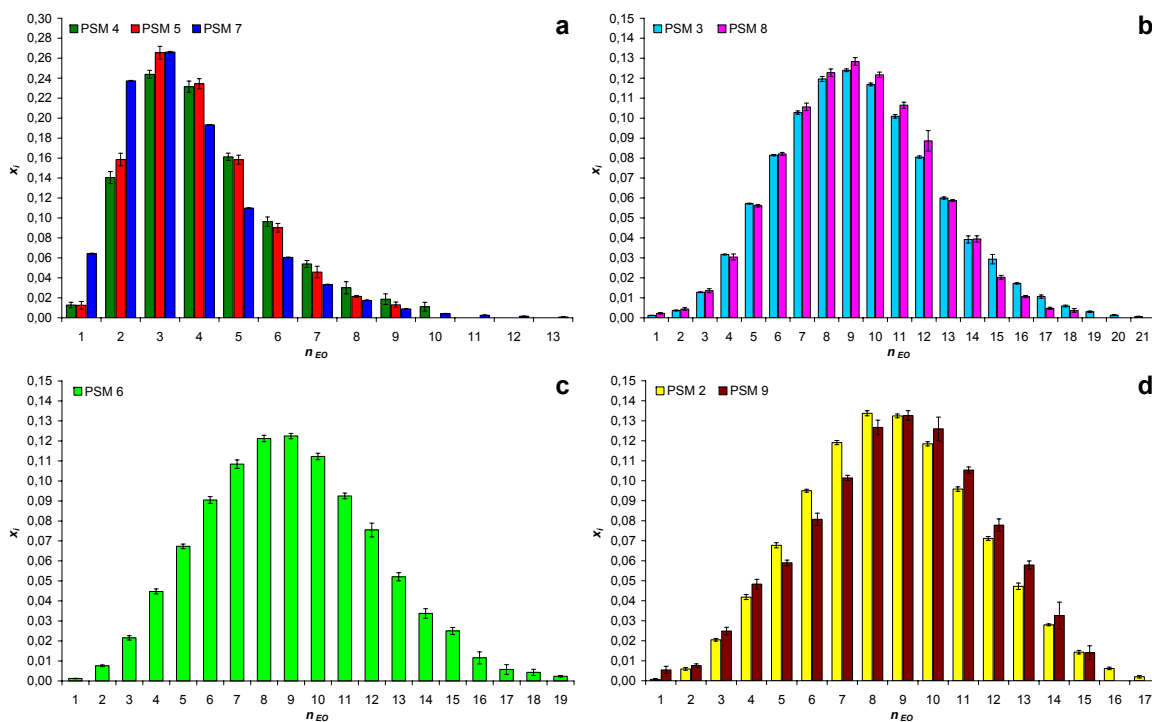


Abbildung 6.47: Ethoxymereverteilung der APEO in den unterschiedlichen PSM-Formulierungen. (a) Emulgierbare Konzentrate formuliert mit NPEO mit mittleren Ethoxylierungsgraden zwischen $\bar{n}_{EO} = 3,5$ und $\bar{n}_{EO} = 4,2$. (b) Emulgierbare Konzentrate formuliert mit NPEO mit mittleren Ethoxylierungsgraden zwischen $\bar{n}_{EO} = 9$ und $\bar{n}_{EO} = 9,5$. (c) Suspensionskonzentrat formuliert mit NPEO mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von $\bar{n}_{EO} = 9,0$. (d) Wasserdispergierbare Granulate formuliert mit OPEO mit mittleren Ethoxylierungsgraden um $\bar{n}_{EO} = 8,7$.

6.3.5 Bestimmung der Ethoxymereverteilung mittels MALDI-ToF-MS

Die MALDI-ToF-MS sollte neben der Identifikation der APEO in den PSM (s. Abs. 6.3.3.3) vor allem zur Überprüfung der mittels NPLC-FLD ermittelten mittleren Molmasse und Ethoxylierungsgrade der APEO-Produkte dienen, die zur Kalibration der RPLC verwendet wurden. Die MALDI-ToF-MS ist dabei zur Untersuchung von APEO mit einem sehr weiten Molekulargewichtsbereich geeignet [26,27,31,196], was sie zu einer ausgezeichneten Ergänzung zur NPLC-FLD machte. Diese Methode wurde bereits zur Bestimmung

der Ethoxymereverteilung und der mittleren Molekulargewichte von NPEO- und OPEO-Tensiden mehrfach verwendet [28, 31, 196].

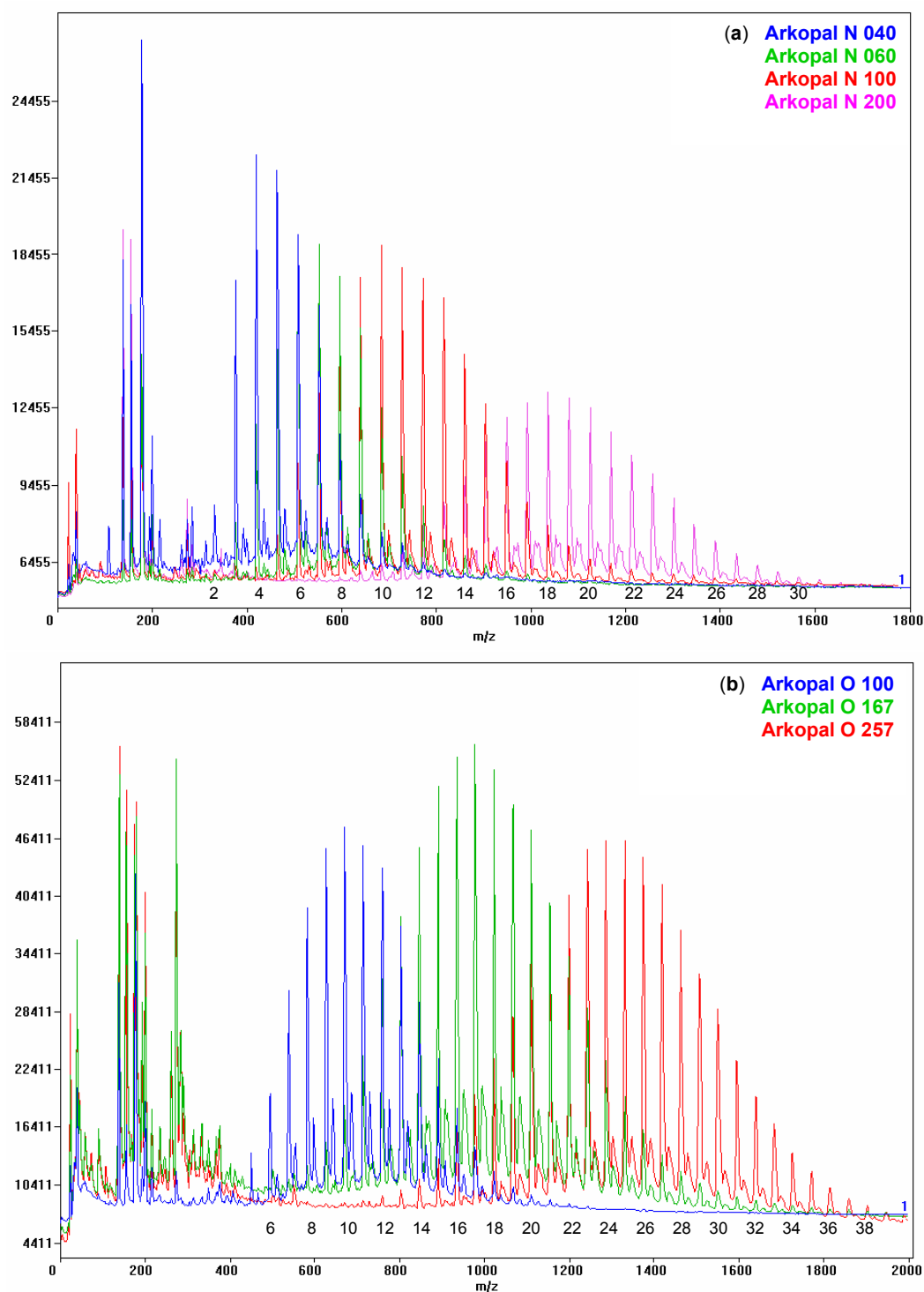


Abbildung 6.48: Mittels MALDI-ToF-MS aufgezeichnete Flugzeitmassenspektren von APEO-Tensiden. (a) Flugzeitmassenspektren der NPEO der Arkopal-N-Serie. (b) Flugzeitmassenspektren der OPEO der Arkopal-O-Serie. Die APEO wurden in einer Matrix aus 2,5-Dihydroxybenzoesäure untersucht.

Wie bereits in **Abs. 6.3.3.3** dargelegt wurde, überwiegt bei der Analyse von undotierten Proben mit Hilfe der MALDI-ToF-MS im positiven Ionisationsmodus in den Flugzeitmassenspektren eindeutig das Natriumadduktion $[M + Na]^+$ [26,27,196]. Für einige APEO wurde zunächst dennoch zusätzlich die homologe Reihe der $[M + K]^+$ -Ionen zur Auswertung herangezogen und die Summen aus den massenspektralen Peakflächen beider Ionen zur Auswertung verwendet. Dabei wurden aber keine abweichenden Ergebnisse ermittelt, so dass nachfolgend auf die Auswertung der $[M + K]^+$ -Ionen verzichtet werden konnte und daher die Auswertung der Flugzeitmassenspektren (s. **Abb. 6.48**), die von Aporinde et al. [27] beschrieben, lassen sich das Zahlenmittel M_n^{MS} und das Gewichtsmittel M_w^{MS} der Molmasse der APEO-Natriumadduktionen direkt aus den massenspektralen Massen M_i^{MS} der einzelnen Ethoxymere i mit derselben Anzahl $n_{EO,i}$ an Oxyethylengruppen und den zugehörigen Peakflächen $A_{Peak,i}^{MS}$ im Flugzeitmassenspektrum bestimmen:

$$M_n^{MS} = \frac{\sum_{i=1}^N (A_{Peak,i}^{MS} \cdot M_i^{MS})}{\sum_{i=1}^N A_{Peak,i}^{MS}} \quad (6.22)$$

und

$$M_w^{MS} = \frac{\sum_{i=1}^N (A_{Peak,i}^{MS} \cdot M_i^{MS^2})}{\sum_{i=1}^N (A_{Peak,i}^{MS} \cdot M_i^{MS})} \quad (6.23)$$

Dabei läßt sich die massenspektrale Masse M_i^{MS} des $[M + Na]^+$ -Addukts eines einzelnen OPEO-Ethoxymers mit $n_{EO,i}$ Oxyethylengruppen berechnen nach:

$$M_{OPEO,i}^{MS} = (206 + n_{EO,i} \cdot 44 + 23) g \cdot mol^{-1} \quad (6.24)$$

Analog gilt für ein einzelnes $[M + Na]^+$ -Adduktion eines NPEO-Ethoxymers:

$$M_{NPEO,i}^{MS} = (220 + n_{EO,i} \cdot 44 + 23) g \cdot mol^{-1} \quad (6.25)$$

Aus dem bestimmten Zahlenmittel M_n^{MS} und Gewichtsmittel M_w^{MS} der Molmasse der APEO-Natriumadduktionen folgt dann unmittelbar das Zahlenmittel M_n und das Gewichtsmittel M_w der Molmasse der APEO:

$$M_n = M_n^{MS} - 23 g \cdot mol^{-1} \quad (6.26)$$

und

$$M_w = M_w^{MS} - 23 g \cdot mol^{-1} \quad (6.27)$$

Da das Detektorsignal des Flugzeitmassenspektrometers den auftreffenden APEO-Natriumadduktionen unmittelbar proportional ist, können die Stoffmengenanteile x_i der einzelnen Ethoxymere i mit derselben Anzahl $n_{EO,i}$ an Oxyethylengruppe aus den Peakflächen $A_{Peak,i}^{MS}$ im Flugzeitmassenspektrum ermittelt werden gemäß:

$$x_i = \frac{n_i}{\sum_{j=1}^L n_j} = \frac{A_{Peak,i}^{MS}}{\sum_{j=1}^L A_{Peak,j}^{MS}} \quad (6.28)$$

Mit Hilfe der Stoffmengenanteile x_i aller Ethoxymere lassen sich dann das Zahlenmittel der Anzahl der Oxyethylengruppen bzw. der mittlere Ethoxylierungsgrad bestimmen:

$$n_{EO,n} = \bar{n}_{EO} = \sum_{i=1}^N (x_i \cdot n_{EO,i}) \quad (6.29)$$

Das Gewichtsmittel der Anzahl an Oxyethylengruppen kann dann wie folgt ermittelt werden:

$$n_{EO,w} = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i \cdot n_{EO,i} \cdot M_i^{MS})}{M_n^{MS}} \quad (6.30)$$

Es konnten für alle in **Tabelle 5.2.1** (s. S. 101) angegebenen APEO, die teilweise zur Kalibrierung der RPLC und für die Aufstockungsexperimente verwendet wurden, aus den Flugzeitmassenspektren die in **Tabelle 6.9** angegebenen Kenndaten ermittelt werden.

Tabelle 6.9: Mittels MALDI-ToF-MS ermittelte Kenndaten der untersuchten APEO-Tenside. Die Kenndaten sind für Mehrfachbestimmungen mit $N = 10$ angegeben.

Handelsname	APEO- Typ	M_n ($g \cdot mol^{-1}$)	M_w ($g \cdot mol^{-1}$)	$n_{EO,n}$ ($= \bar{n}_{EO}$)	$n_{EO,w}$	PDI
Arkopal N 040	NPEO	467 ± 14	489 ± 15	$5,6 \pm 0,3$	$6,1 \pm 0,3$	$1,05 \pm 0,05$
Arkopal N 060	NPEO	565 ± 6	594 ± 9	$7,8 \pm 0,1$	$8,5 \pm 0,2$	$1,05 \pm 0,02$
Arkopal N 100	NPEO	734 ± 9	776 ± 7	$11,7 \pm 0,2$	$12,6 \pm 0,2$	$1,06 \pm 0,02$
Arkopal N 200	NPEO	1055 ± 11	1096 ± 12	$18,9 \pm 0,2$	$19,9 \pm 0,3$	$1,04 \pm 0,02$
Arkopal O 100	OPEO	687 ± 3	717 ± 4	$10,91 \pm 0,07$	$11,58 \pm 0,049$	$1,044 \pm 0,007$
Arkopal O 167	OPEO	990 ± 7	1030 ± 8	$17,8 \pm 0,2$	$18,7 \pm 0,2$	$1,04 \pm 0,01$
Arkopal O 257	OPEO	1285 ± 11	1320 ± 11	$24,5 \pm 0,3$	$25,3 \pm 0,3$	$1,03 \pm 0,01$
Marlophen [®] NP 3	NPEO	451 ± 9	480 ± 12	$5,2 \pm 0,2$	$5,9 \pm 0,3$	$1,06 \pm 0,03$
Marlophen [®] NP 6	NPEO	574 ± 8	605 ± 10	$8,0 \pm 0,2$	$8,7 \pm 0,2$	$1,05 \pm 0,02$
Marlophen [®] NP 9	NPEO	713 ± 6	750 ± 9	$11,2 \pm 0,1$	$12,0 \pm 0,2$	$1,05 \pm 0,02$
Marlophen [®] NP 12	NPEO	797 ± 10	836 ± 10	$13,1 \pm 0,2$	$14,0 \pm 0,2$	$1,05 \pm 0,09$
Marlophen [®] NP 15	NPEO	964 ± 9	1006 ± 9	$16,9 \pm 0,2$	$17,8 \pm 0,2$	$1,044 \pm 0,009$
Triton X-100	OPEO	702 ± 29	724 ± 35	$11,3 \pm 0,8$	$11,8 \pm 0,7$	$1,03 \pm 0,06$

6.3.6 Methodenvergleich zwischen NPLC-FLD und MALDI-ToF-MS

Die beiden unabhängigen Methoden, die zur Bestimmung der Ethoxymerenverteilung sowie der mittleren Molmassen und Ethoxylierungsgrade eingesetzt wurden, kommen zu signifikant unterschiedlichen Ergebnissen. Dabei werden mit der MALDI-ToF-MS im Vergleich zur NPLC-FLD deutlich höhere mittlere Molmassen und Ethoxylierungsgrade ermittelt. Die mit Hilfe der beiden Methoden bestimmten Ethoxymerenverteilungen weichen deutlich voneinander ab (s. **Abb. 6.49**).

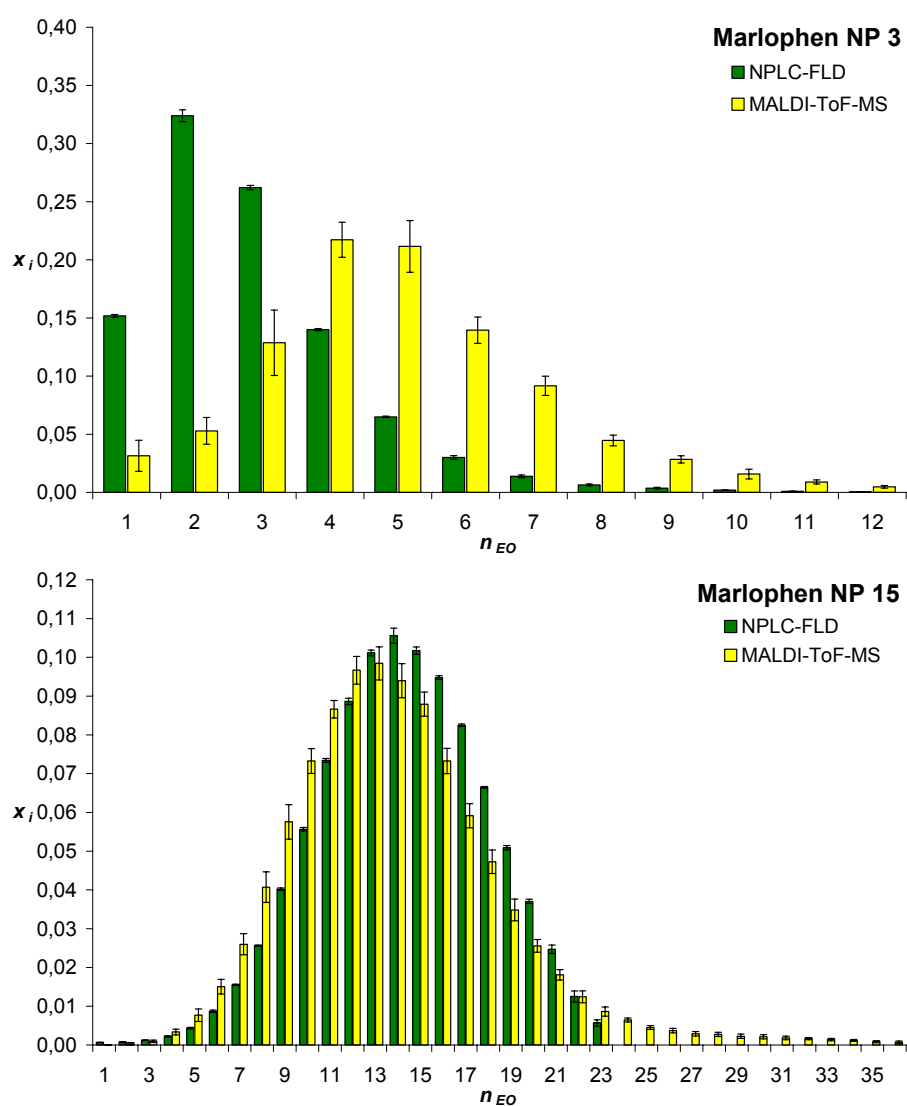


Abbildung 6.49: Vergleich zwischen NPLC-FLD und MALDI-ToF-MS anhand der für zwei unterschiedliche NPEO-Tenside ermittelten Ethoxymerenverteilungen. Es sind die jeweils mit beiden Methoden ermittelten Ethoxymerenverteilungen von Marlophen NP 3 und Marlophen NP 15 dargestellt.

Die relativen Abweichungen sind für die APEO mit einem geringeren mittleren Ethoxylierungsgrad deutlich höher. Für APEO mit $\bar{n}_{EO} \leq 4$ liegen die mittels der MALDI-ToF-MS ermittelten Zahlenmittel der Molmassen mehr als 25 % über denen mit der NPLC-FLD ermittelten. Für APEO mit mittleren Ethoxylierungsgraden um $\bar{n}_{EO} = 10$ sind es immerhin noch ca. 15 % Abweichung.

Just et al. [196] konnten bei vergleichenden Untersuchungen mit der SFC nachweisen, dass es bei der MALDI-ToF-MS im unteren Molekulargewichtsbereich $\leq 500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\bar{n}_{EO} \leq 6$) bei der Analyse von Polyethylenglykolen und Alkylphenolethoxylaten zu deutlichen Diskriminierungseffekten kommt. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen entsprechende Befunde (s. Marlophen NP 3 in **Abb. 6.49**). Die Fähigkeit von Polyoxyalkylen-gruppen Alkaliionen zu komplexieren ist ein bekanntes Phänomen, welches ausführlich von Cross [86] beschrieben wird. Die Fähigkeit zur Komplexierung wird mit der Bildung von Strukturen, die denen der Kronenetherkomplexe von Alkaliionen entsprechen, beschrieben. Für APEO mit kurzkettigen Polyoxyethylengruppen sollte daher aus sterischen Gründen die Bildung solcher Strukturen erschwert sein. Ferner ist bei den APEO mit $n_{EO} \leq 3$ die Anzahl der O-Atome zur Bildung kronenetheranaloger Strukturen nicht ausreichend. Daher sollten die Na^+ -Adduktionen der APEO mit $n_{EO} \leq 3$ weniger stabil sein und somit die Signalintensitäten dieser APEO im Flugzeitmassenspektrum geringer sein.

Diese Diskriminierungseffekte allein können jedoch nicht die beobachteten Abweichungen der ermittelten Zahlenmittel der Molmassen im gesamten untersuchten Molmassenbereich hinreichend erklären. Wie bereits in **Abs. 6.3.4.1** angesprochen wurde, kommt es bei der NPLC-FLD umgekehrt zu einer Diskriminierung der Ethoxymere mit sehr hohem Ethoxylierungsgrad ($n_{EO} > 23$), da diese aufgrund der extremen Peakverbreiterung in den Chromatogrammen sehr flache Peaks mit ungenügender Intensität aufweisen (s. **Abb. 6.44** S. 194 und Marlophen NP 15 in **Abb. 6.49**).

Mit Hilfe einer Kreuzvalidierung beider Methoden (s. **Abb. 6.50**) ließ sich zwischen beiden Methoden eine systematische Abweichung für die ermittelten Zahlenmittel der Molmassen feststellen. Die Daten korrelieren sehr gut miteinander ($R^2 = 0,9969$). Es ließ sich folgende Beziehung ermitteln:

$$M_n^{MALDI-ToF-MS} = (1,00 \pm 0,02) \cdot M_n^{NPLC-FLD} + (93 \pm 11) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (6.31)$$

Die mit Hilfe der MALDI-ToF-MS bestimmten Zahlenmittel der Molmassen weichen konstant ab, sie sind im Mittel um $(93 \pm 11) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ höher als die Werte, die mittels der NPLC-FLD bestimmt wurden.

Wegen oben erwähnter Diskriminierung der Ethoxymere mit $\bar{n}_{EO} \leq 6$ war die MALDI-ToF-MS weniger gut geeignet für die Bestimmung der mittleren Molmassen der APEO,

die aus den PSM-Formulierungen isoliert wurden. Alle PSM, bei denen APEO nachgewiesen wurden, waren mit APEO mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad $\bar{n}_{EO} < 10$ formuliert. Daher wurde bei der Kalibrierung der RPLC ausschließlich auf die Daten zurückgegriffen, die mittels NPLC-FLD bestimmt wurden. Eine Abschätzung der Zahlenmittel der Molmassen für Arkopal N 200 und Arkopal O 257, die einer Analyse mittels NPLC-FLD nicht zugänglich waren, konnte wegen der sehr guten Korrelation zwischen beiden Methoden mit Hilfe der **Gl. 6.31** erfolgen. Daraus ergaben sich für Arkopal N 200 $M_n = (962 \pm 30) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\bar{n}_{EO} = 16,8 \pm 0,5$) sowie für Arkopal O 257 $M_n = (1192 \pm 35) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\bar{n}_{EO} = 22,4 \pm 0,7$). Die auf diese Weise ermittelten Werte wurden zur Berechnung von Stoffmengenkonzentrationen der Lösungen dieser beiden APEO-Tenside verwendet, wenn diese bei der Entwicklung und zur Überprüfung der Kalibrierstrategie für die RPLC eingesetzt wurden. Sie wurden jedoch nicht zur Kalibration selbst verwendet.

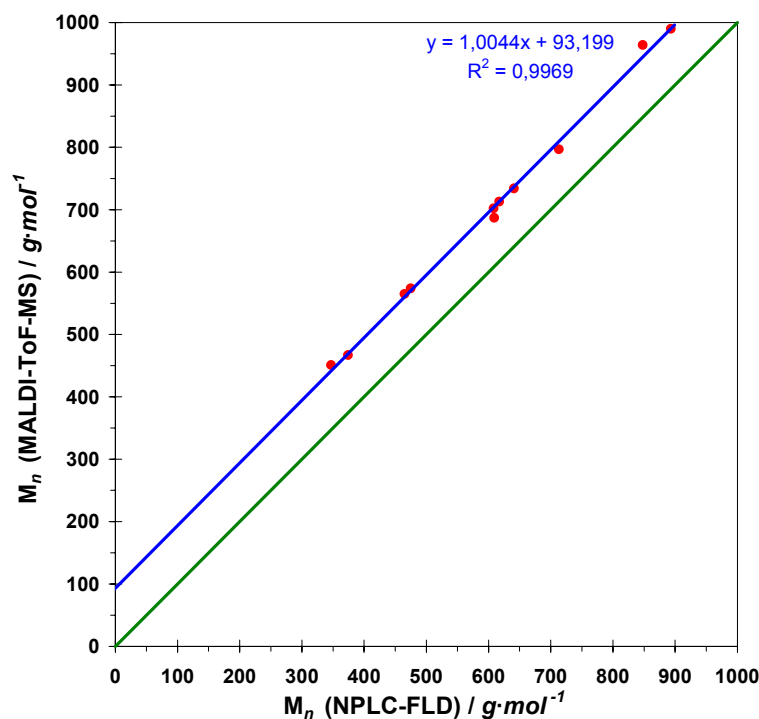


Abbildung 6.50: Vergleich der Methoden zur Bestimmung der mittleren Molmasse: NPLC-FLD vs. MALDI-ToF-MS. Es sind die mittels beider Methoden ermittelten Zahlenmittel der Molmassen der 11 APEO-Tenside mit $M_n < 1000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ gegeneinander aufgetragen. Die Daten korrelieren mit $R^2 = 0,9969$ sehr gut miteinander. Es lässt sich eine systematische Abweichung von $(93 \pm 11) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ feststellen.

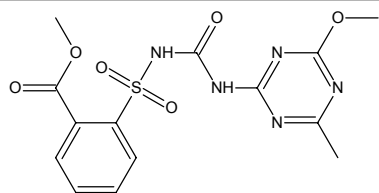
6.4 Identifizierung von Pestiziden in den untersuchten PSM-Formulierungen mittels GC-MS

Da aus datenschutzrechtlichen Gründen keinerlei Informationen über die untersuchten PSM-Proben vorlagen, wurden die PSM-Wirkstoffe mit Hilfe der GC-MS identifiziert, um auf diese Weise ergänzende Informationen zu erhalten. Die PSM-Formulierungen wurden mit der in **Tabelle 5.22** (s. S. 127) angegebenen Methode in ethanolischen Lösungen von $0,5\text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $7,0\text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ untersucht. Dabei erfolgte die Identifikation der Pestizide nach GC-Trennung zunächst über einen Vergleich der Massenspektren mit EI-Massenspektren aus einer Datenbank (NIST). Eine Verifikation der Befunde wurde anhand der Retentionszeiten und der Massenspektren von Vergleichsstandards durchgeführt. Mit Hilfe der in **Abs. 5.2.2** (s. S. 102) angegebenen Herbizid- und Insektizidstandards ließen sich die Wirkstoffe aller untersuchten PSM identifizieren.

In den PSM-Formulierungen wurden mittels GC-MS die in **Tabelle 6.10** angegebenen Wirkstoffe identifiziert.

Tabelle 6.10: Mittels GC-MS in den PSM-Formulierungen identifizierte Pestizide.

Wasserdispergierbare Granulate **PSM 1**, **PSM 2** und **PSM 9**



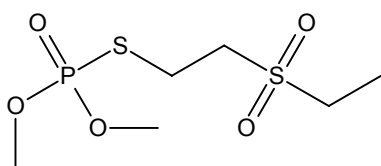
Metsulfuron-methyl

Methyl-2-[[[4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl]amino]carbonyl]amino]sulfonyl]benzoat

Sulfonylharnstoff

Herbizid

Emulgierbares Konzentrat **PSM 3**



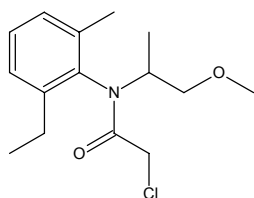
Demeton-S-methylsulfon

S-2-Ethylsulfonylethyl-*O*,*O*-dimethylthiophosphat

organischer Phosphorsäureester

Insektizid

Emulgierbare Konzentrate **PSM 4** und **PSM 5**



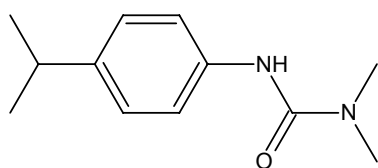
Metolachlor

2-Ethyl-6-methyl-*N*-(2-methoxy-1-methylethyl)chloracetanilid

Acetanilid

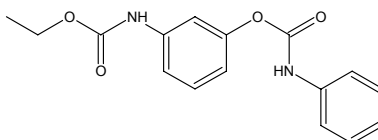
Herbizid

Tabelle 6.10 (Fortsetzung)

Suspensionskonzentrat **PSM 6****Isoproturon***N*-(4-Isopropylphenyl)-*N*',*N*'-dimethylharnstoff

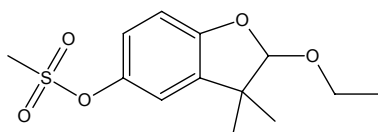
Harnstoffderivat

Herbizid

Emulgierbares Konzentrat **PSM 7****Desmedipham**Ethyl-*N*-(3-phenylcarbamoyloxyphenyl)carbamate

Biscarbamat

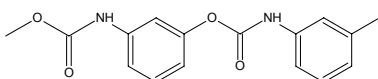
Herbizid

**Ethofumesat**

(±)-2-Ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethyl-benzofuran-5-yl-methansulfonat

Benzofuranderivat

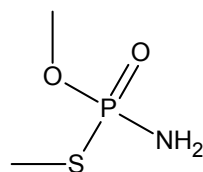
Herbizid

**Phenmedipham**

Methyl-3-(3-methylcarbaniloyloxy)carbanilat

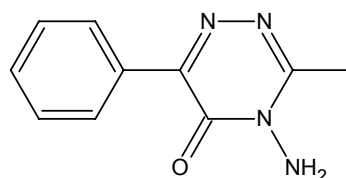
Biscarbamat

Herbizid

Emulgierbares Konzentrat **PSM 8****Methamidophos***O,S*-Dimethylamidothiophosphat

organischer Phosphorsäureester

Insektizid

Suspensionskonzentrat **PSM 10****Metamitron**

4-Amino-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5-on

Triazinonderivat

Herbizid

6.5 Flüssigkeitschromatographie von APEO an Umkehrphasen

6.5.1 Retentionsverhalten von APEO an Umkehrphasen

In zahlreichen Anwendungen wurde die Bestimmung von APEO mittels HPLC mit Hilfe von Umkehrphasen durchgeführt. Als stationäre Phasen haben sich hierbei C8 [3, 4, 67, 83, 107, 127, 129, 251, 253, 255, 257, 323, 346, 347] und C18 [22, 39, 56, 57, 59, 94, 98, 237, 244, 252, 257, 258, 290, 298, 306, 319, 340, 346, 347, 413, 414] gleichermaßen bewährt, wobei die RPLC überwiegend zur Untersuchung von Umweltproben eingesetzt wurde. Nur wenige der veröffentlichten Arbeiten beschäftigen sich mit der Analytik von APEO in Pestiziden [323] und anderen industriellen, gewerblichen oder häuslichen Zubereitungen wie etwa Reinigungsmittel [22, 67, 69, 251, 257, 398] oder beispielsweise Erzflotationshilfsmittel [414].

Da im Gegensatz zu Umweltproben, bei denen in der Regel nur kuzkettige APEO enthalten sind, die Ethoxymerenverteilung der als Formulierungshilfsmittel verwendeten APEO aufgrund unterschiedlicher Formulierungsformen stark variieren kann, wurden für die chromatographischen Experimente mit den Umkehrphasen ebenfalls wie bei der NPLC auf APEO mit sehr unterschiedlichen mittleren Ethoxylierungsgraden zurückgegriffen. Die in dieser Arbeit beschriebenen RPLC-Experimente wurden sowohl mit einer C8- als auch einer C18-Phase durchgeführt. Als C8-Phase diente eine Zorbax Eclipse XDB-C8 (150 mm x 4,6 mm I.D.). Als C18-Phase wurde 5 μ m Eurospher 100 C18 verwendet, die in den Säulendimensionen 125 mm x 4 mm I.D. und 250 mm x 4 mm I.D. zur Verfügung stand. Üblicherweise werden bei der LC von APEO sowohl für die Gradientenelution als auch für eine isokratische Elution an C8, C18 oder anderen Umkehrphasen mobile Phasen aus Methanol / Wasser [3, 4, 22, 98, 94, 107, 127, 129, 252, 258, 255, 298, 319, 323, 325, 413, 398, 413] oder Acetonitril / Wasser [39, 69, 257, 252, 258, 298, 306, 325, 340, 346, 347] verwendet, so dass diese beiden Lösemittelsysteme Bestandteil der Untersuchungen waren.

Das Retentionsverhalten der APEO wird bei der RPLC primär durch die Alkylgruppe bestimmt. Dabei ist die Retardierung um so größer, je länger die Alkylkette und je geringer deren Verzweigungsgrad ist, so dass eine zufriedenstellende Auflösung zwischen NPEO und OPEO in der Regel bereits mittels isokratischer Elution zu erreichen ist, wobei OPEO vor den NPEO eluiert. Eine isokratische Elution hat im Vergleich zur Gradientenelution für die Quantifizierung den eindeutigen Vorteil, dass sie zu wesentlich stabileren Basislinien führt. Außerdem sind mit ihr kürzere Analysenzeiten möglich, da ein Reäquilbrieren der stationären Phase zwischen den einzelnen Analysen entfällt.

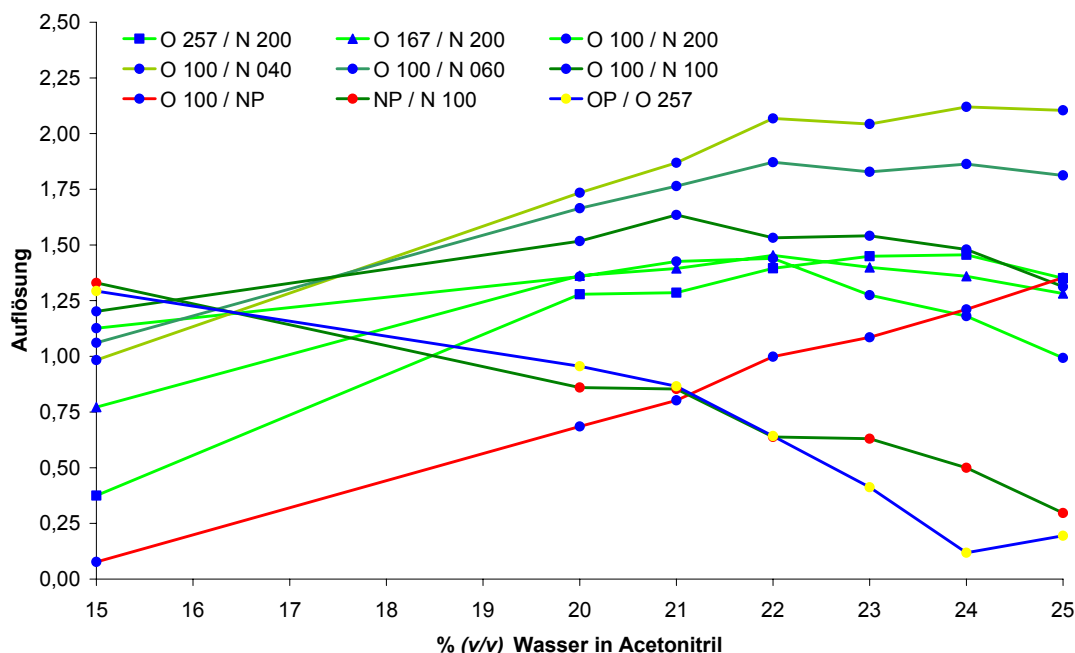


Abbildung 6.51: Abhängigkeit der Auflösung zwischen OPEO, OP, NPEO und NP vom Wassergehalt der mobilen Phasen bei der RPLC. Es sind die Auflösungen von unterschiedlichen NPEO (Arkopal N Serie) und OPEO (Arkopal O Serie) sowie NP und OP für eine isokratische Elution mit Acetonitril / Wasser unter Verwendung der $5\text{ }\mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125\text{ mm} \times 4\text{ mm I.D.}$) bei $1,0\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und $20\text{ }^\circ\text{C}$ dargestellt.

Da die sichere Differenzierung zwischen OPEO und NPEO eine wichtige Voraussetzung für die Analysen der PSM war, fand eine Parameteroptimierung unter Verwendung von verschiedenen OPEO und NPEO mit sehr unterschiedlichen Ethoxylierungsgraden statt. Zusätzlich wurde das Elutionsverhalten von 4-NP und 4-*tert*-OP untersucht. Es stellte sich heraus, dass die $5\text{ }\mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125\text{ mm} \times 4\text{ mm I.D.}$) mit dem Lösemittelsystem Acetonitril / Wasser für diesen Zweck am besten geeignet war. Dabei wurde festgestellt, dass die Auflösung zwischen OPEO und NPEO mit ansteigendem Wassergehalt zunimmt, bis sie aufgrund der zunehmenden Peakverbreiterung bei ansteigenden Retentionszeiten wieder abnimmt (s. **Abb. 6.51**).

Die besten Auflösungen wurden bei einer Elution mit Acetonitril/Wasser 78:22 (v/v) bei $1,0\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von $20\text{ }^\circ\text{C}$ erreicht. Bei diesen Bedingungen ist für alle untersuchten APEO die Auflösung zwischen NPEO und OPEO $R_S \geq 1,4^2$. Eine Differenzierung zwischen OP und OPEO sowie NP und NPEO ist bei diesen Bedingungen ebenfalls möglich (s. **Abb. 6.51**).

²Die Auflösung R_S wurde aus den Retentionszeiten t_R und den Peakbreiten an der Basis w_b ermittelt nach: $R_S = \frac{2 \cdot (t_{R,2} - t_{R,1})}{w_{b,1} + w_{b,2}}$

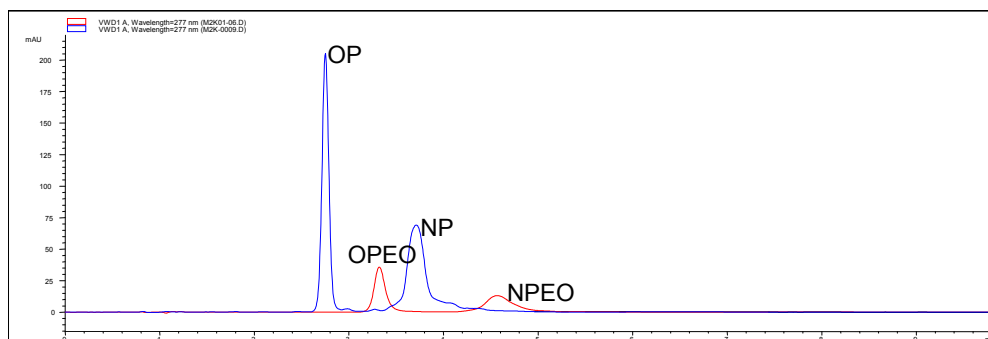


Abbildung 6.52: Trennung von OPEO, OP, NPEO und NP mittels RPLC bei optimierten chromatographischen Bedingungen. Die Auflösung R_S zwischen Arkopal N 100 ($t_R = 4,442 \text{ min}$) und Arkopal O 100 ($t_R = 3,236 \text{ min}$) ist bei diesen Bedingungen $> 1,5$. Eine Differenzierung zu 4-NP ($t_R = 3,714 \text{ min}$) und 4-tert-OP ($t_R = 2,752 \text{ min}$) ist ebenfalls gut möglich. Bei der als RPLC 1 bezeichneten Methode wird isokratisch mit Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v) unter Verwendung der $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm I.D.}$) bei $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und 20°C eluiert (Agilent-HPLC, VWD $\lambda = 277 \text{ nm}$).

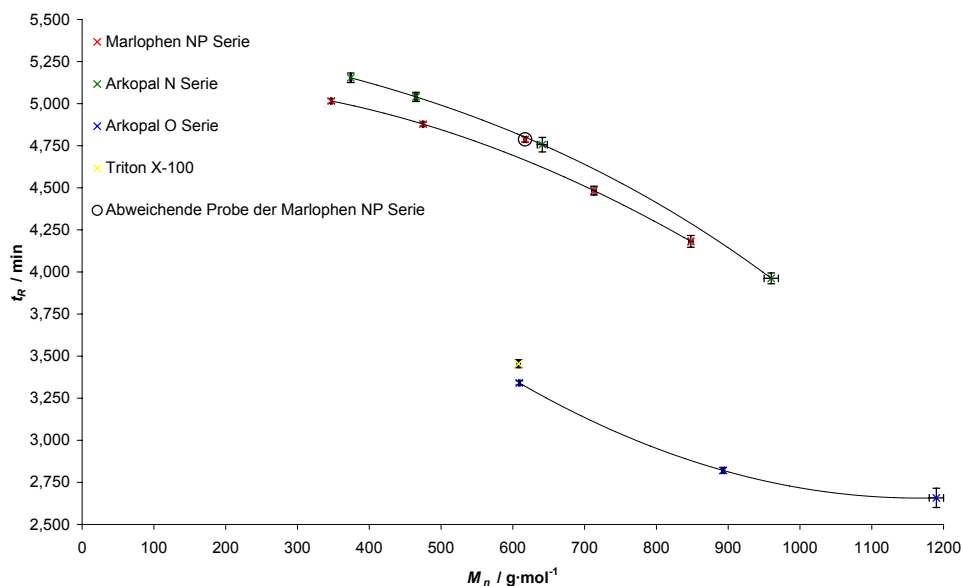


Abbildung 6.53: Abhängigkeit der APEO-Retentionszeiten von den Moleküleigenschaften bei isokratischer Elution bei 20°C mit Actonitril / Wasser 78:22 (v/v) unter Verwendung der C18-Trennsäule $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm I.D.}$). Das Retentionsverhalten wird primär durch die Alkylkette bestimmt (NPEO im Vergleich zu OPEO), hängt aber auch deutlich von der mittleren Molmasse, also dem Ethoxylierungsgrad, ab. Es zeigen sich für NPEO deutliche Unterschiede zwischen den beiden Produkten Arkopal (Clariant) und Marlophen (Sasol), vermutlich aufgrund unterschiedlicher Isomerenverteilung der Alkylkette der zur Herstellung eingesetzten NP.

Bezüglich der Auflösung führt die Verwendung des Lösemittelsystems Methanol / Wasser als mobile Phase im Prinzip zu ähnlichen Ergebnisse, auch mit diesem System lassen sich NPEO und OPEO ausreichend gut auflösen. Im Bereich von 15 % bis 20 % Wasser waren die Auflösungen $R_S \geq 1,2$. Bei höherem Wasseranteil sanken diese dann wegen der starken Peakverbreiterung auf unter 1 ab.

Auch wenn das Retentionsverhalten der APEO primär durch die Alkylgruppe bestimmt wird, so läßt sich dennoch ein Einfluss der Polyoxyethylengruppe beobachten. Mit steigendem Ethoxylierungsgrad werden sowohl die NPEO als auch die OPEO mit Acetonitril / Wasser 78:22 (*v/v*) früher von der C18-Phase eluiert (s. **Abb. 6.53**). Der Einfluss der Polyoxyethylengruppe ist in der Regel geringer als derjenige der Alkylgruppe.

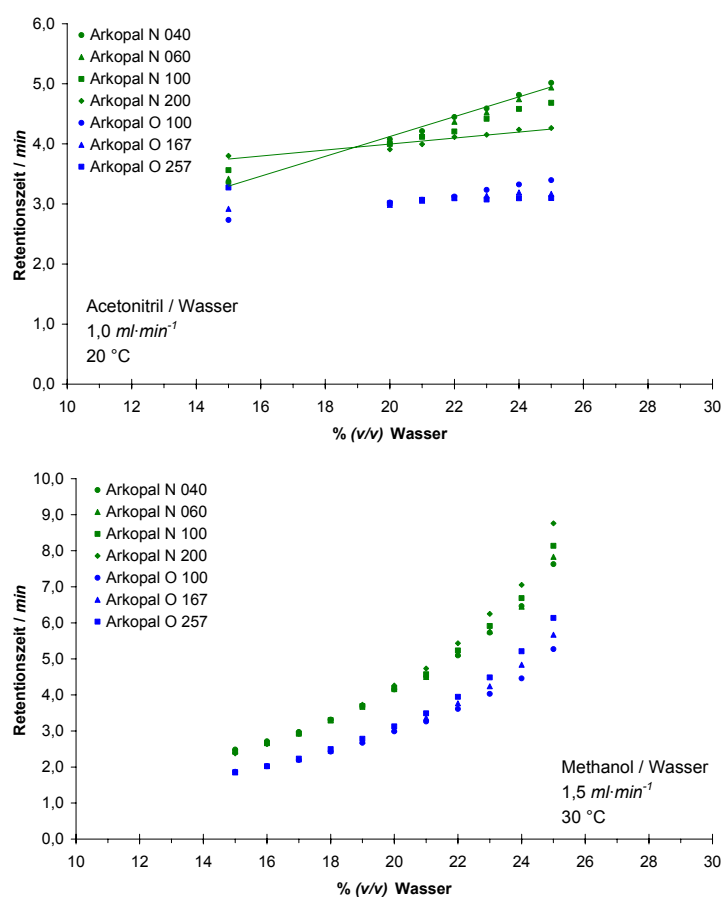


Abbildung 6.54: Abhängigkeit des Retentionsverhaltens der APEO auf C18 vom Ethoxylierungsgrad, der Alkylgruppe und der Zusammensetzung der mobilen Phase. Die untersuchten APEO unterscheiden sich anhand ihrer mittleren Ethoxylierungsgrade, z. B. Arkopal N 040 ($\bar{n}_{EO} = 3,49$) von Arkopal N 200 ($\bar{n}_{EO} = 16,8$), sowie anhand der Alkylgruppe, z. B. Arkopal N 100 (NPEO) und Arkopal O 100 (OPEO). Es ist das Retentionsverhalten der APEO auf der C18-Trennsäule 5 μm Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.) in Abhängigkeit von den chromatographischen Bedingungen dargestellt (Agilent-HPLC, VWD $\lambda = 277 \text{ nm}$).

Die Polyoxyethylengruppe gewinnt jedoch mit steigendem Wassergehalt und damit ansteigender Polarität der mobilen Phase zunehmend an Bedeutung. Bei Verwendung des Systems Acetonitril / Wasser zeigt sich zudem ein deutlich abweichendes Retentionsverhalten gegenüber Methanol / Wasser. Werden bei der mobilen Phase Acetonitril / Wasser bei geringem Anteil von Wasser ($< 19\%$) zunächst genau wie bei Methanol / Wasser die APEO in der Reihenfolge aufsteigender Ethoxyierungsgrade eluiert, also z. B. Arkopal N 040 ($\bar{n}_{EO} = 3,49$) vor Arkopal N 200 ($\bar{n}_{EO} = 16,8$), so kehrt sich die Elutionsreihenfolge bei Wassergehalten $\geq 20\%$ (v/v) um (s. **Abb. 6.54**). Bei Methanol wurde ein solches Verhalten im untersuchten Bereich nicht festgestellt (s. **Abb. 6.54**). Die Elution erfolgt bei Methanol / Wasser im Bereich von 15% bis 25% Wasser bei einer Säulentemperatur von 30°C und einer Flussrate von $1,5\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ immer in der Reihenfolge aufsteigender Ethoxyierungsgrade. Die Unterschiede in den Retentionszeiten zwischen den einzelnen NPEO und zwischen den einzelnen OPEO nehmen allerdings mit sinkendem Wassergehalt immer mehr ab, so dass bei einem Wassergehalt von 15% die Ethoxylatkettenlänge nahezu keinen Einfluss mehr auf die Retentionszeit hat.

Das Retentionsverhalten der APEO mit dem System Methanol / Wasser auf der C8-Phase unterscheidet sich nicht grundlegend von der C18-Phase (s. **Abb. 6.55**). Es zeigte sich jedoch, dass die Auflösung zwischen OPEO und NPEO bei einem Wassergehalt $\leq 20\%$ unzureichend ist. Ferner findet auch hier wie bei dem System Acetonitril / Wasser auf der C18-Phase eine Umkehr der Retentionsreihenfolge statt. Unterhalb von 20% bis 25% Wasser werden die APEO mit kleinerem Ethoxyierungsgrad später eluiert als ihre höheren Homologen. Bei höherem Wasseranteil findet ein genau entgegengesetztes Elutionsverhalten statt. Ursächlich hierfür sind unterschiedliche Retentionsmechanismen, zu denen die APEO aufgrund ihrer hydrophilen und hydrophoben Gruppen befähigt sind. Bei geringem Wassergehalt in der mobilen Phase überwiegen die hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den gelösten APEO und der stationären Phase, so dass mit steigendem Ethoxyierungsgrad der hydrophile Molekülteil gegenüber dem hydrophoben Teil an Bedeutung gewinnt und es damit zu stärkeren abstoßenden Kräften mit der unpolaren C8- bzw. C18-Gruppe bei gleichbleibenden hydrophoben Wechselwirkungen der Alkylgruppe des Tensids kommt. Daher werden APEO bei gleicher Alkylgruppe aber kürzerer Ethoxylatkettenlänge stärker retadiert. Bei C8- und C18-Phasen auf Kieselgelbasis gewinnen die sauren Silanolgruppen des Kieselgelgerüsts an Bedeutung, wenn diese nicht ausreichend endgecappt sind. Aufgrund der zunehmenden Polarität der mobilen Phase bricht die büstenähnliche Struktur der chemisch gebundenen C8- bzw. C18-Gruppen zusammen, so dass die Silanolgruppen des Kieselgelgerüsts für Wechselwirkungen zugänglich werden. Daher kommt es dann zu hydrophilen Wechselwirkungen mit den Polyoxyethylengruppen der APEO. Diese sind für die APEO-Homologen mit höherem Ethoxyierungsgrad größer, so dass diese

stärker retardiert werden und es zu einer Umkehr der Elutionsreihenfolge der Homologen kommt. Für diesen Mechanismus spricht auch die deutliche Zunahme des Peakleadings mit ansteigendem Wassergehalt (s. **Abb. 6.55**). Insgesamt ist ein zu hoher Wasseranteil daher aufgrund der sehr stark zunehmenden Peakverbreiterung nachteilig.

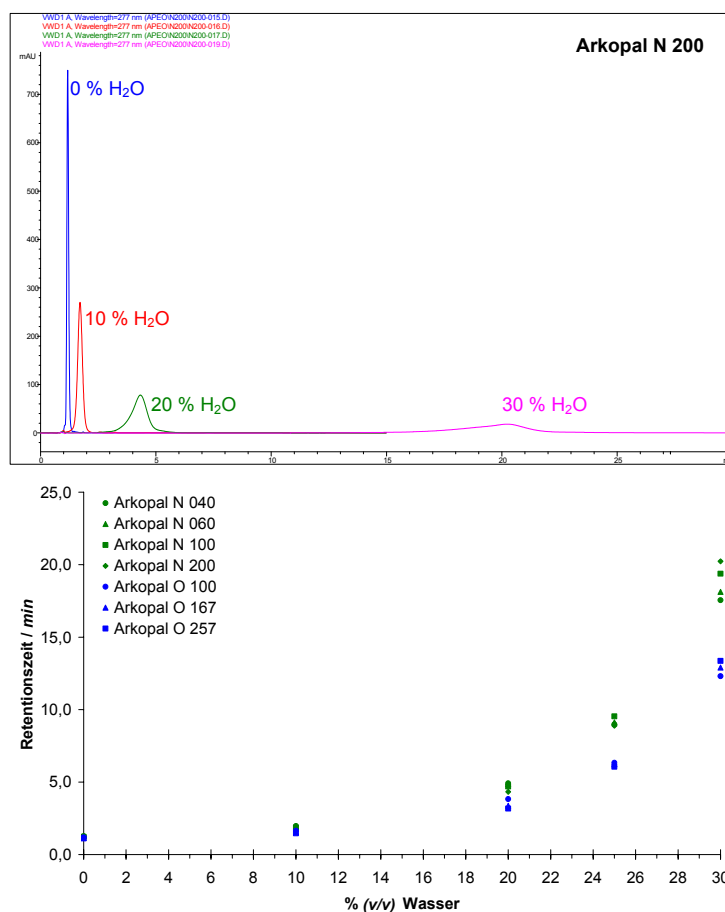


Abbildung 6.55: Abhängigkeit des Retentionsverhaltens der APEO auf C8 vom Ethoxylierungsgrad, der Alkylgruppe und der Zusammensetzung der mobilen Phase. Die untersuchten APEO unterscheiden sich anhand ihrer mittleren Ethoxylierungsgrade, z. B. Arkopal N 040 ($\bar{n}_{EO} = 3,49$) von Arkopal N 200 ($\bar{n}_{EO} = 16,8$, Chromatogramme oben), sowie anhand der Alkylgruppe, z. B. Arkopal N 100 (NPEO) und Arkopal O 100 (OPEO). Es ist das Retentionsverhalten der APEO auf der C8-Trennsäule $5\ \mu\text{m}$ Zorbax Eclipse XDB-C8 ($150\ \text{mm} \times 4,6\ \text{mm}$ I.D.) in Abhängigkeit von den chromatographischen Bedingungen dargestellt (Agilent-HPLC, VWD $\lambda = 277\ \text{nm}$).

6.5.2 Detektion von APEO

6.5.2.1 UV-Absorptionsdetektion

Alkylphenolethoxylate sind wie alle Aromaten sehr gut für eine UV-Detektion geeignet. Sie tragen mit dem aromatischen Ring eine einzige chromophore Gruppe. Im UV-Spektrum lassen sich daher drei durch die möglichen $\pi_{2/3} \rightarrow \pi_{4/5}^*$ -Elektronenübergänge hervorgerufene Banden beobachten: Die sehr intensive β -Bande, die ebenfalls sehr intensive p-Bande und die weniger intensive α -Bande, die im Gegensatz zu Benzol aufgrund der zwei Substituenten am aromatischen Ring keine ausgewiesene Feinstruktur aufweist (s. **Abb. 6.56**).

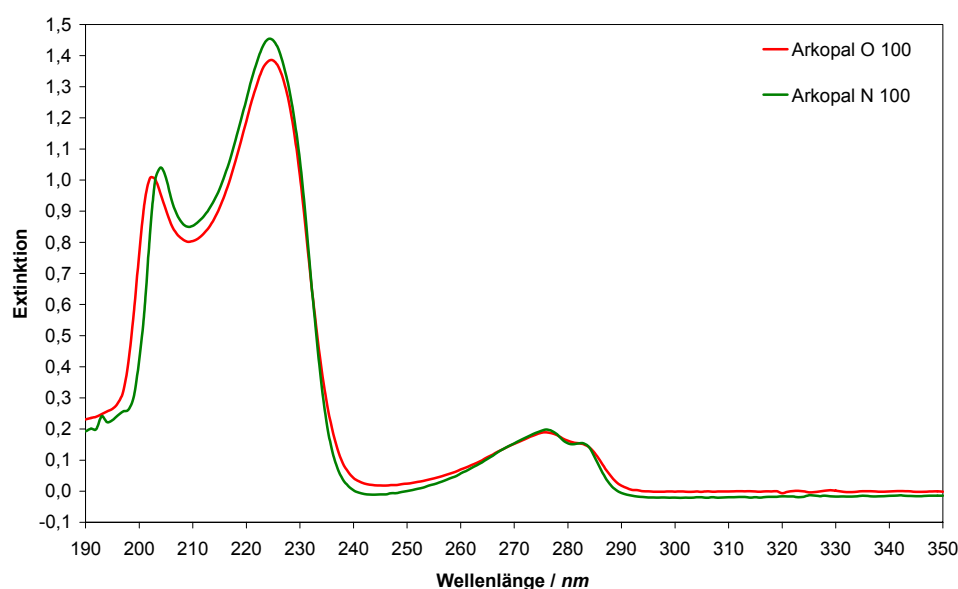


Abbildung 6.56: UV-Absorptionsspektren von NPEO und OPEO. Es sind die beiden Spektren äquimolarer Lösungen von $120 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 100 ($\bar{n}_{EO} = 9,50$) und Arkopal O 100 ($\bar{n}_{EO} = 9,14$) in Methanol dargestellt, die drei Absorptionsmaxima bei $\lambda = 204 \text{ nm}$ bzw. $\lambda = 203 \text{ nm}$ (β -Bande), bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ (p-Bande) und bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ (α -Bande) aufweisen. Die α -Bande zeigt eine charakteristische Schulter bei $\lambda = 283 \text{ nm}$.

Die Spektren von NPEO und OPEO ähneln einander sehr (s. **Abb. 6.56** und **Abb. 6.57**). Für äquimolare Lösungen von $120 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 100 (NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,50$) und Arkopal O 100 (OPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,14$) in Methanol wurden beispielsweise drei Absorptionsmaxima bei identischer oder sehr ähnlicher Wellenlänge festgestellt. Die zu beobachtende β -Bande von NPEO bei $\lambda = 204 \text{ nm}$ lag sehr dicht an der β -Bande des OPEO-Tensids ($\lambda = 203 \text{ nm}$), während OPEO und NPEO eine identische p-Bande ($\lambda = 227 \text{ nm}$) und α -Bande ($\lambda = 277 \text{ nm}$) zeigten. Die Lagen der p- und der α -Bande sind im Gegensatz zur β -Bande nicht besonders stark vom Lösemittel abhängig. So wurde z. B. für

NP(EO)₁₂ in wässriger Lösung eine deutlich abweichende Lage der β -Bande bei 195 nm festgestellt, während die Lage der p-Bande (222 nm) und noch weniger die der α -Bande (275 nm) kaum verschoben sind [92]. Holt et al. [174] haben für Nonidet P40, bei dem es sich um ein OPEO-Tensid mit $\bar{n}_{EO} = 8,5$ handelt, Absorptionsmaxima bei 225 nm und 278 nm registriert, die denen in dieser Arbeit ermittelten sehr ähnlich sind. Auch Destailats et al. [98] haben für Triton X-100, einem polydispersen OPEO, ähnliche Maxima bei 224 nm und bei 276 nm ermittelt. Ähnlich wie bei den Untersuchungen von Holt et al. [174] ($\lambda = 285$ nm) wies die α -Bande eine charakteristische Schulter auf, die in den untersuchten methanolischen Lösungen bei 283 nm lag (s. **Abb. 6.56**).

Aufgrund der vom Lösemittel wenig beeinflussten Lage der Maxima sind für die UV-Detektion sowohl die p-Bande als auch die α -Bande geeignet. Die β -Bande ist aufgrund der in diesem Wellenlängenbereich geringen UV-Durchlässigkeit der zur APEO-Trennung häufig verwendeten Elutionsmittel, wie z. B. Alkohole, Alkane oder Acetonitril, zur UV-Detektion eher ungeeignet. Zur Gradientenelution ist sicherlich die α -Bande trotz geringerer Intensität am besten geeignet.

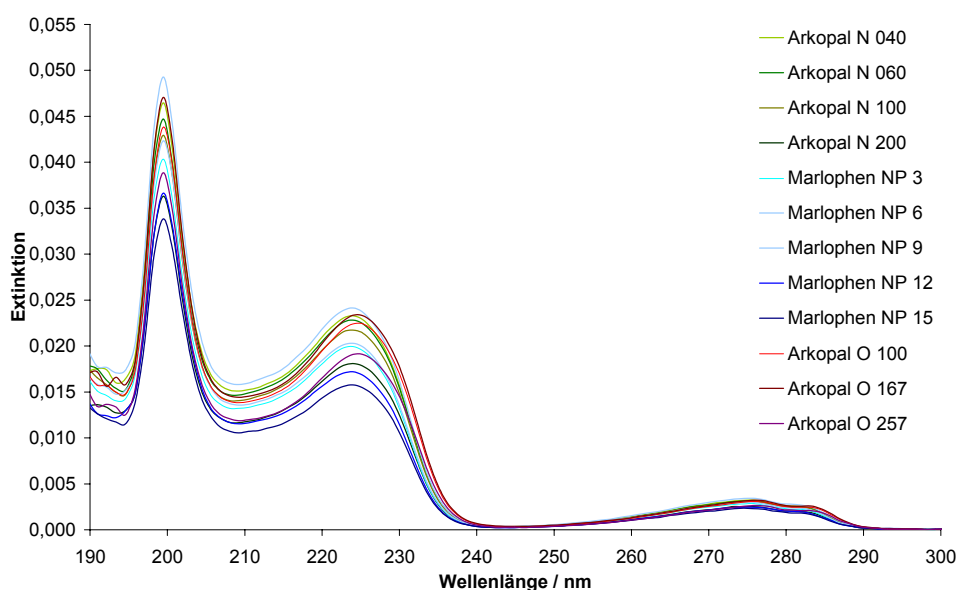


Abbildung 6.57: Nach RPLC-Trennung mit dem Diodenarraydetektor am Peakmaximum aufgezeichnete UV-Absorptionsspektren von NPEO- und OPEO-Tensiden mit unterschiedlichen Ethoxylierungsgraden. Es wurden nahezu äquimolare ethanolische Lösungen im Bereich von $115 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $140 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ unterschiedlicher NPEO- und OPEO-Tenside mit sehr unterschiedlichen mittleren Ethoxylierungsgraden von $\bar{n}_{EO} = 2,87$ bis $\bar{n}_{EO} = 22,4$ untersucht. Die UV-Spektren weisen nahezu identische Maxima bei 200 nm (β -Bande), um 225 nm (p-Bande) und bei 277 nm (α -Bande) mit Schulter bei ca. 282 nm auf. Es wurde mittles einer $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18-Phase (125 mm x 4 mm I.D.) mit Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v) bei $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und bei 20 °C analysiert (Methode RPLC 1, s. **Tab. 5.17** S. 122).

Für die Kalibrierbarkeit der chromatographischen Bestimmung der APEO mittels UV-Detektion spielt es eine große Rolle, inwieweit die Lage der Bandenmaxima von der Konzentration und der Art der APEO beeinflusst sind. Wie bereits in **Abbildung 6.56** anhand des Vergleiches der UV-Spektren von Arkopal N100 und Arkopal O100 gezeigt wurde, sind die beiden für eine UV-Detektion am besten geeigneten Wellenlängen $\lambda = 227\text{ nm}$ (p-Bande) und $\lambda = 277\text{ nm}$ (α -Bande) nicht von der Alkylgruppe beeinflusst. Sowohl die p-Bande als auch die α -Bande zeigen eine nicht nur von der Alkylgruppe sondern auch vom Ethoxyierungsgrad nahezu unabhängige Lage der Absorptionsmaxima (s. **Abb. 6.57**). Dieser von Drugärin et al. [116] berichtete Sachverhalt ließ sich anhand der Analyse von äquimolaren Lösungen unterschiedlicher NPEO- und OPEO-Tenside mittels der RPLC 1 (Shimadzu-HPLC 1) unter Verwendung des DAD bestätigen. Dabei wurde ein sehr breiter Molmassenbereich mit Ethoxyierungsgraden von $\bar{n}_{EO} = 2,87$ bis $\bar{n}_{EO} = 22,4$ untersucht. Die UV-Spektren wiesen nahezu identische Maxima bei 200 nm (β -Bande), um 225 nm (p-Bande) und bei 277 nm (α -Bande) mit Schulter bei ca. 282 nm auf. Auch die Tatsache, dass das UV-Spektrum von 4-*tert.*-Octylphenol denen der APEO-Tenside sehr ähnlich ist, weist auf diesen Zusammenhang hin. Es wurden Maxima bei 196 nm , 224 nm und 278 nm ermittelt [98]. Ferner konnte für 4-Octyl-, 4-Nonyl- und 4-Dodecylphenolethoxylat gezeigt werden, dass sowohl die Lage des Absorptionsmaximums der α -Bande (278 nm) als auch die Lage der charakteristischen Schulter dieser Bande (283 nm) unabhängig vom Alkylsubstituenten am aromatischen Ring sind [272].

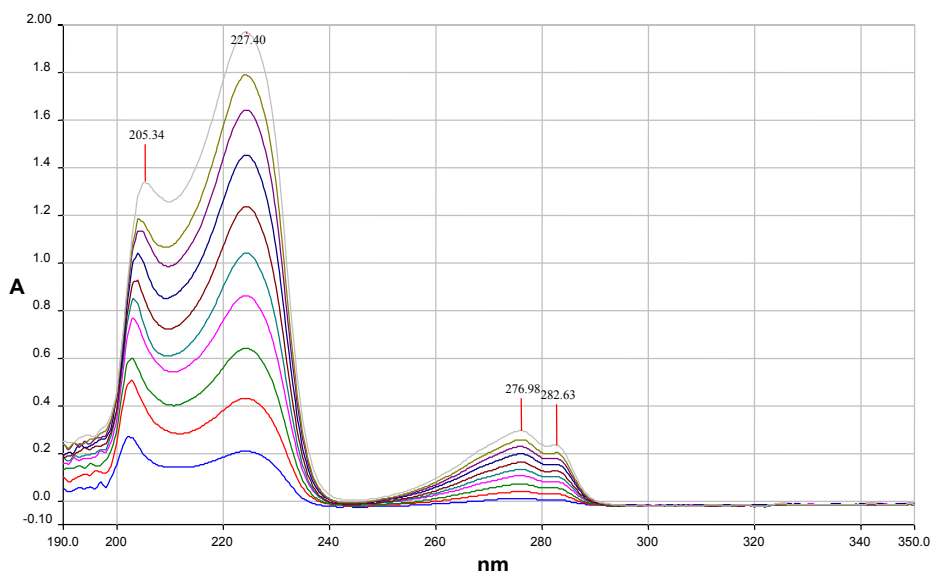


Abbildung 6.58: UV-Absorptionsspektrum von NPEO in Abhängigkeit von der Konzentration. Die dargestellten UV-Spektren zeigen die Lage der Absorptionsmaxima mit steigender Konzentration methanolischer Lösungen von Arkopal N 100 im Bereich von $1,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $11,7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Während die p-Bande ($\lambda = 227 \text{ nm}$) und die α -Bande ($\lambda = 277 \text{ nm}$) in ihrer Lage stabil sind, weist die β -Bande aufgrund ihrer starken Abhängigkeit vom Lösemittel einen konzentrationsabhängigen Drift auf (201 nm nach 205 nm).

Desweiteren haben die Untersuchungen ergeben, dass die Lage der p- und der α -Bandenmaxima auch nicht von der Konzentration der APEO in der untersuchten Lösung abhängen (s. **Abb. 6.58**). Das Maximum der β -Bande im UV-Spektrum von Arkopal N 100 in methanolischer Lösung wies in einem Konzentrationsbereich von $1,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $11,7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ hingegen immerhin einen Drift von ca. 4 nm zu längeren Wellenlängen hin auf.

In der Regel wird man bei der Analyse der meisten Proben auf eine eher breite Molekulargewichtsverteilung der APEO treffen. Bei der Quantifizierung der einzelnen NPEO- und OPEO-Oligomere mittels UV-Detektion steht man nach einer z. B. chromatographischen Auftrennung mittels NPLC vor dem Problem einer geeigneten Kalibration, da eine Kalibration für jedes einzelne Oligomer nahezu unmöglich ist, nicht zuletzt wegen der mangelnden Verfügbarkeit geeigneter Standards. Auch eine Kalibration bei der RPLC steht vor dem Problem, ob beispielsweise eine Kalibration mit polydispersen Ethoxymengemischen möglich ist, oder ob die Intensität des UV-Signals von der Länge der Polyoxyethylengruppe und von der Art des Alkylrestes der APEO beeinflusst wird. Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass der molare Absorptionskoeffizient für eine vorgegebene Wellenlänge in einem weiten Molekularbereich nahezu unabhängig vom Ethoxylierungsgrad ist [201, 272, 312].

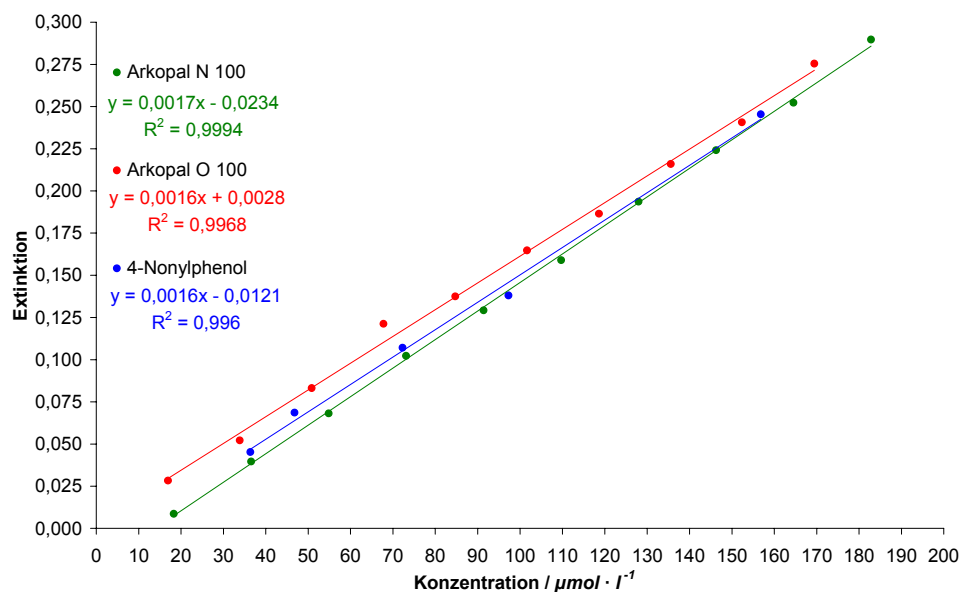


Abbildung 6.59: Absorptionsmessungen bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ an methanolischen Lösungen von NPEO, OPEO und NP. In dem untersuchten Konzentrationsbereich von $10 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $200 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ zeigt das *Lambert-Beersche Gesetz* Gültigkeit und es ergibt sich eine lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Stoffmengenkonzentration. Die molaren Absorptionskoeffizienten des NPEO-Tensids Arkopal N 100 ($\varepsilon = 1692 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), des OPEO-Tensids Arkopal O 100 ($\varepsilon = 1586 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) und von 4-Nonylphenol ($\varepsilon = 1624 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) sind sehr ähnlich und kaum von den Substituenten am aromatischen Ring beeinflusst.

Die durchgeführten Absorptionsmessungen bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ mit methanolischen Lösungen haben gezeigt, dass im untersuchten Konzentrationsbereich von $10 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $200 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ das *Lambert-Beersche Gesetz* für NPEO, OPEO und NP Gültigkeit hat (s. **Abb. 6.58**), was für eine UV-Detektion bei der Kalibration wichtig ist. Mit $R^2 \geq 0,996$ ergab sich eine sehr gute lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Stoffmengenkonzentration. Dabei waren die molaren Absorptionskoeffizienten des NPEO-Tensids Arkopal N 100 ($\varepsilon = 1692 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), des OPEO-Tensids Arkopal O 100 ($\varepsilon = 1586 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) und von 4-Nonylphenol ($\varepsilon = 1624 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) einander sehr ähnlich, obwohl die untersuchten Substanzen deutliche Unterschiede beider Substituenten aufwiesen. Sowohl die Alkylgruppe (Octyl oder Nonyl) als auch die Polyoxyethylen- bzw. im Falle des NP sogar die Hydroxygruppe haben kaum Einfluss auf das Absorptionsverhalten des aromatischen Rings. Die dargestellten Ergebnisse entsprechen im wesentlichen den Resultaten anderer Untersuchungen. In Abhängigkeit vom Lösemittel wurden beispielsweise für NPEO bei 275 nm sehr ähnliche mittlere, molare Absorptionskoeffizienten von $\varepsilon = 1700 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ in wässriger Lösung und $\varepsilon = 1600 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ in wässriger, ethanolischer Lösung (60:40 (v/v)) bestimmt [92]. In methanolischer Lösung wurden für 4-Octyl-, 4-Nonyl- und

4-Dodecylphenoethoxylate bei $\lambda = 278 \text{ nm}$ mittlere Werte von $\varepsilon = 1400 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ gefunden, wobei für OPEO mit Kettenlängen von einer bis 50 Oxyethyleneinheiten ε nur in einem sehr engen Bereich zwischen $1400 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ und $1470 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ variierte [272]. Für OP(EO)₁ bis OP(EO)₁₂ lagen die molaren Absorptionskoeffizienten in Methyl-*tert.*-butylether bei 230 nm zwischen $8200 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ und $9400 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, für 278 nm wurde ein Bereich von $1500 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ bis $1800 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ermittelt [174].

Aus der Unabhängigkeit des molaren Absorptionskoeffizienten von der Anzahl der EO-Einheiten folgt unmittelbar, dass sich die Absorptivität a , als spezifisches spektrales Absorptionsmaß, umgekehrt proportional zum Molekulargewicht verhalten sollte. Aus dem *Lambert-Beerschen Gesetz*

$$E = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon \cdot d \cdot c \quad (6.32)$$

folgt wegen $C = c \cdot M$ unmittelbar für a :

$$a = \frac{E}{c} = \varepsilon \cdot d \cdot M^{-1} \quad (6.33)$$

Eine Überprüfung dieses Zusammenhangs wurde durch Absorptionsmessungen mit allen verfügbaren APEO-Tensiden in ethanolischer Lösung durchgeführt. Es zeigte sich eine relativ gute Korrelation ($R^2 = 0,9598$) zwischen a und M^{-1} . Aus der Steigung der in **Abbildung 6.60** dargestellten Regressionsgeraden ergibt sich wegen einer Schichtdicke von $d = 1 \text{ cm}$ unmittelbar der mittlere molare Absorptionskoeffizienten für APEO in ethanolischer Lösung. Es wurde für die APEO in ethanolischer Lösung ein Wert von $\varepsilon = 1477 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ermittelt.

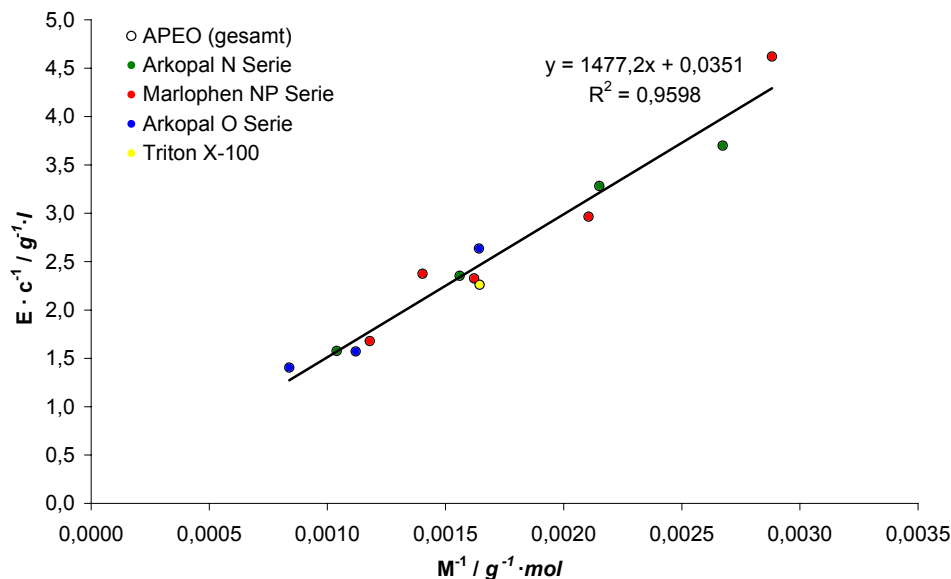


Abbildung 6.60: Zusammenhang zwischen Absorptivität und mittlerer Molmasse von APEO in ethanolischen Lösungen bei $\lambda = 277 \text{ nm}$. Die Korrelation zwischen der Absorptivität $a = \frac{E}{c}$ und M^{-1} ist dargestellt.

Eine lineare Korrelation zwischen a und M^{-1} wurde bereits durch andere Untersuchungen bestätigt [92,272]. Eine direkte Korrelation zwischen Ethoxylierungsgrad und Peakfläche, des vom UV-Detektor aufgezeichneten Chromatogramms, ist daher möglich [3,4,312], so dass beispielsweise für die NPLC unter Verwendung relativer Responsefaktoren für die einzelnen Ethoxymere mit geeigneten kommerziell leicht verfügbaren Ethoxymermischungen kalibriert werden kann. Relative Responsefaktoren können bezogen auf die Summe aller Ethoxymere [398], in Relation zu einem einzelnen Ethoxymer [187] oder unter Verwendung eines Standards wie 2,4,6-Trimethylphenol [3,4,414] ermittelt werden.

6.5.2.2 Fluoreszenzdetektion

Aromatische Verbindungen wie APEO sind ausgezeichnet geeignet für die Fluoreszenzdetektion. Aufgrund der charakteristischen Absorption der APEO im ultravioletten Bereich (s. **Abs. 6.5.2.1**) sind für die Fluoreszenzdetektion geeignete Anregungswellenlängen (λ_{ex}) im Bereich der p-Bande und der α -Bande zu finden (s. **Abb. 6.61**).

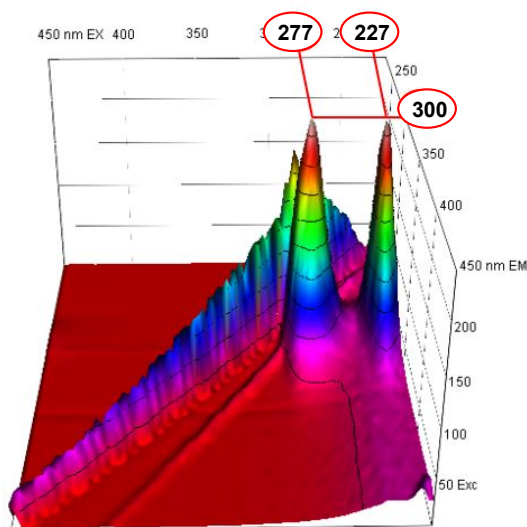


Abbildung 6.61: 3D-Fluoreszenzspektrum des NPEO-Tensids Arkopal N100. Es ist das 3D-Fluoreszenzspektrum einer Lösung von $1,75 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N100 ($\bar{n}_{EO} = 9,5$) in Ethanol dargestellt, das zwei Absorptionsmaxima bei $\lambda_{ex} = 227 \text{ nm}$ und $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ aufweist. Maximale Emission wurde bei $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$ beobachtet.

Die Untersuchungen an methanolischen Lösungen, die für verschiedene NPEO und OPEO sowie für 4-NP und 4-*tert*-OP durchgeführt wurden, ergaben ebenso wie für die UV-Absorption auch für die Fluoreszenz der APEO sowohl von der Länge der Polyoxyethylengruppe als auch von der Art der Alkylgruppe unabhängige Bandenmaxima (s. **Abb. 6.62**). In den methanolischen Lösungen konnten im Anregungsspektrum aller untersuchten Verbindungen für eine Emissionswellenlänge von $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$ die intensive p-Bande bei etwa 227 nm und die etwas schwächere α -Bande bei 277 nm beobachtet werden. Das Emissionsmaximum lag für alle untersuchten Substanzen sowohl für $\lambda_{ex} = 227 \text{ nm}$ als auch für $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ bei etwa 300 nm . Andere Untersuchungen kommen zu vergleichbaren Ergebnissen, so wurden z. B. für ein OPEO-Tensid (Nonidet P40) Absorptionsmaxima bei 225 nm , 278 nm sowie 285 nm beobachtet [174]. Für dasselbe Tensid war eine maximale Emission bei 302 nm ($\lambda_{ex} = 230 \text{ nm}$) festzustellen [174], während Kudoh et al. [218] für NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 8$ maximale Anregung bei 280 nm und maximale Emission bei 310 nm ermittelt haben.

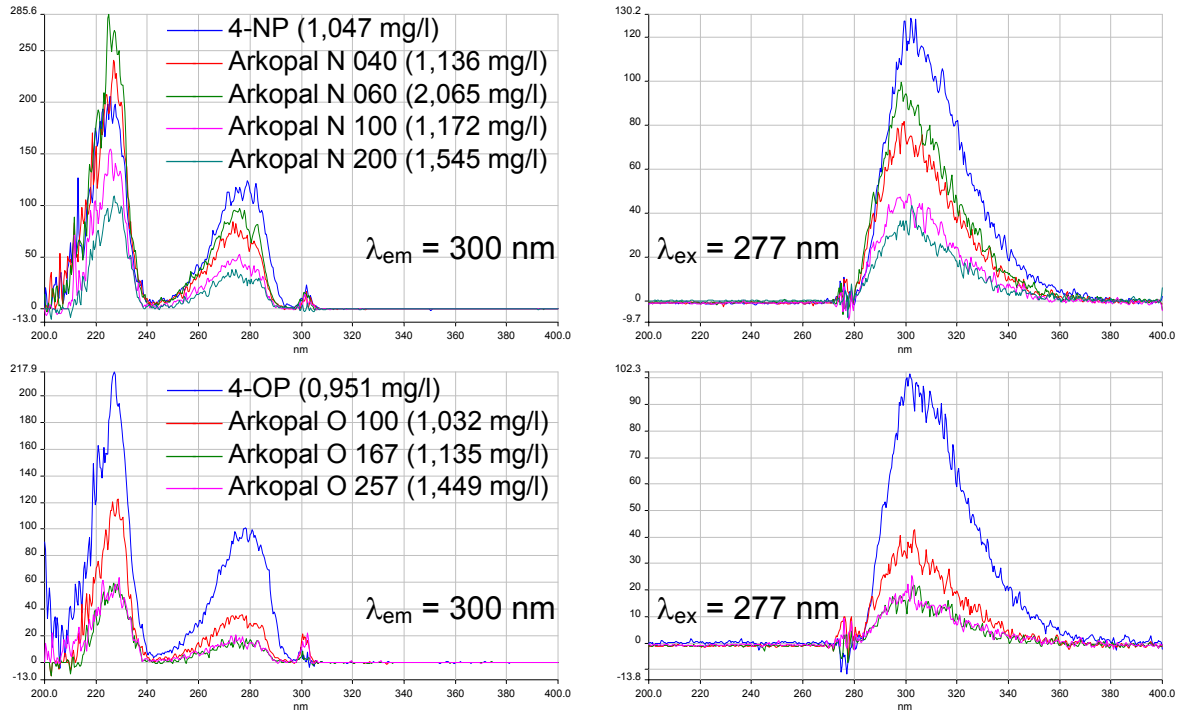


Abbildung 6.62: Anregungs- und Emissionsfluoreszenzspektren von verschiedenen NPEO-Tensiden, 4-NP, verschiedenen OPEO-Tensiden und 4-*tert*-OP in methanolischer Lösung. Es sind die Anregungsspektren bei $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$ von vier verschiedenen NPEO und 4-NP (oben links) sowie von drei verschiedenen OPEO und 4-*tert*-OP (unten links) dargestellt. Die entsprechenden Emissionsspektren bei $\lambda_{em} = 277 \text{ nm}$ sind jeweils rechts daneben abgebildet.

Für die Kalibrierbarkeit des Fluoreszenzdetektors bei der Bestimmung der APEO mittels RPLC aber auch bei der Ermittlung der Ethoxymerenverteilung mittels NPLC-FLD ist von Bedeutung, dass ähnlich wie bei der UV-Absorptionsdetektion (s. **Abs. 6.5.2.1**) das emittierte Fluoreszenzsignal für unterschiedliche APEO, die eine voneinander abweichende Kettenlänge der Polyoxyethylengruppe aufweisen, nur von der Stoffmengenkonzentration abhängt und nicht durch die Substituenten am aromatischen Ring beeinflusst wird. Im Allgemeinen gilt, dass die Intensität der gemessenen Fluoreszenzstrahlung $I_{FL}^{\lambda_{em}}$ bei der Emissionswellenlänge λ_{em} bei einer konstanten Fluoreszenzquantenausbeute Φ_{FL} und einer konstanten Intensität $I_0^{\lambda_{ex}}$ der Anregungsstrahlung der Wellenlänge λ_{ex} direkt proportional zur Stoffmengenkonzentration C ist:

$$I_{FL}^{\lambda_{em}} = \Phi_{FL} \cdot I_0^{\lambda_{ex}} \cdot \ln 10 \cdot \varepsilon \cdot d \cdot C \quad (6.34)$$

Wegen $C = c \cdot M$ folgt eine zur **Gl. 6.33** analoge Beziehung:

$$\frac{I_{FL}^{\lambda_{em}}}{C} = \Phi_{FL} \cdot I_0^{\lambda_{ex}} \cdot \ln 10 \cdot \varepsilon \cdot d \cdot M^{-1} \quad (6.35)$$

Demnach sollte $\frac{I_{FL}^{\lambda_{em}}}{c}$ umgekehrt proportional zum Molekulargewicht M sein, wenn die Intensität des Fluoreszenzsignals ausschließlich von der Stoffmengenkonzentration der APEO abhängt. Sollte ein davon abweichender Zusammenhang bestehen, also die Ethoxylatkettenlänge Einfluss auf das Fluoreszenzverhalten der APEO ausüben, sollte eine von der Linearität abweichende Beziehung zwischen $\frac{I_{FL}^{\lambda_{em}}}{c}$ und M bestehen. Anhand von Fluoreszenzmessungen bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$ mit ethanolischen Lösungen aller APEO-Tensid wurde festgestellt, dass zwischen $\frac{I_{FL}^{\lambda_{em}}}{c}$ und M ein linearer Zusammenhang mit einer relativ guten Korrelation von $R^2 = 0,972$ besteht (s. **Abb. 6.63**).

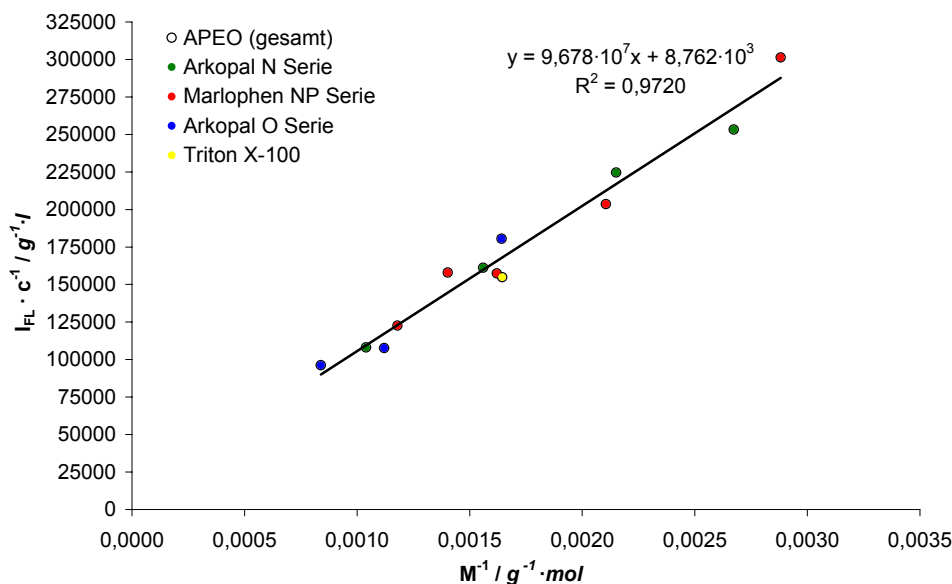


Abbildung 6.63: Zusammenhang des Quotienten aus der gemessenen Intensität der Fluoreszenzstrahlung und der Massenkonzentration mit der mittleren Molmasse von APEO in ethanolischen Lösungen bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$. Es ist die Korrelation zwischen $\frac{I_{FL}^{\lambda_{em}}}{c}$ und M^{-1} dargestellt.

Damit sollten die relativen, auf die injizierte Masse bezogenen Responsefaktoren für die einzelnen Ethoxymere genau wie bei der UV-Detektion auch bei Verwendung eines Fluoreszenzdetektors mit wachsender Kettenlänge der Polyoxyethylengruppe linear ansteigen. Wie für die UV-Detektion konnte auch für die Fluoreszenzdetektion ebenfalls ein linearer Zusammenhang zwischen relativen Responsefaktoren und Ethoxylierungsgrad bzw. Molekulargewicht nachgewiesen werden [14, 174]. Somit kann unter Verwendung von relativen Responsefaktoren bezogen auf ein einzelnes Oligomer, z. B. NP(EO)₁ [14] oder OP(EO)₁₂ [174], oder auf die Summe aller Oligomere [250] mit kommerziell erhältlichen NPEO-Tensiden mit unterschiedlich breiter Ethoxymerverteilung als externe Standards kalibriert werden. Die Verwendung von internen Standards wie 2,4,6-Trimethylphenol oder 4-tert.-Butylphenol ist ebenfalls möglich [14].

6.5.3 Selektivität der RPLC

Die Selektivität der analytischen Methode hat einen sehr starken Einfluss auf die Güte der Analysenergebnisse, da eine mangelnde Selektivität die analytische Methode anfällig gegenüber Matrixeinflüssen macht. Dann kann es durch sich ändernde Matrixzusammensetzungen zu unterschiedlich großen Fehlern kommen. Die beiden in dieser Arbeit präsentierten unabhängigen RPLC-Methoden RPLC 1 und RPLC 2 wurden als komplementäre Methoden konzipiert, da beide Methoden unterschiedliche Vorteile aber auch Schwächen aufwiesen.

Am Anfang der Arbeit wurde zunächst ausschließlich die Methode RPLC 1 ($5\text{ }\mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125\text{ mm} \times 4\text{ mm}$ I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), s. **Tab. 5.17** S. 122) verwendet, da diese wie in **Abs. 6.5.1** dargelegt wurde, das beste Auflösungsvermögen zwischen NPEO und OPEO aufwies. Eine gute Trennung der OPEO von den NPEO war notwendig, da diese beiden Tensidtypen für die spätere Bestimmung mittels NPLC-FLD durch den Einsatz der RPLC aus den PSM isoliert werden mussten. Zu diesem Zweck wurde die Methode RPLC 1 daher stets eingesetzt. Außerdem war eine eindeutige Differenzierung für die Analyse der PSM entscheidend. Neben der guten Auflösung von OPEO und NPEO bot die Methode RPLC 1 auch den Vorteil einer schnellen Trennung. Es zeigte sich aber sehr bald, dass diese Methode nicht immer eine ausreichende Trennung von Matrixbestandteilen und APEO sicherstellte, wenn z. B. emulgierbare Konzentrate direkt in Lösung ohne vorherige SPE oder Flüssig-Flüssig-Extraktion analysiert wurden. Auch die APEO-Bestimmung nach Fest-Flüssig-Extraktion konnte zu matrixbedingten Problemen führen (s. **Abbildung 6.64**).

Aus diesem Grund kam es zum Einsatz der zweiten RPLC-Methode (RPLC 2, $5\text{ }\mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($250\text{ mm} \times 4\text{ mm}$ I.D.), Methanol / Wasser 75:25 (v/v), s. **Tab. 5.18** S. 123). Diese wies bei komplexeren Matrices in der Regel eine deutlich verbesserte Trennung zwischen den APEO und Matrixbestandteilen auf (s. **Abbildung 6.64**). Nachteile dieser Methode waren die deutlich längeren Trennzeiten, die aufgrund der längeren Retentionszeiten deutlich verbreiterten Peaks der APEO und die dadurch hervorgerufene schlechtere Auflösung zwischen NPEO und OPEO. Außerdem musste ein zunehmender Drift der Retentionszeiten der APEO in Abhängigkeit vom Ethoxyierungsgrad in Kauf genommen werden, was eine sichere Identifizierung der APEO erschwerte. Durch den Einsatz von APEO-Standards mit Ethoxyierungsgraden, die denen der APEO in den PSM entsprachen, ließ sich dennoch eine eindeutige Identifizierung erreichen.

Die unterschiedlichen Trennleistungen zwischen RPLC 1 und RPLC 2 können anhand der **Abbildung 6.64** verdeutlicht werden. An dem dargestellten Beispiel ist auch der Einfluss der Detektion auf die Selektivität der analytischen Methode ersichtlich. Eine höhere Selektivität kann grundsätzlich auf zwei unterschiedlichen Wegen erreicht werden,

durch Erhöhung der chromatographischen Trennleistung oder durch Verbesserung der Detektorspezifität.

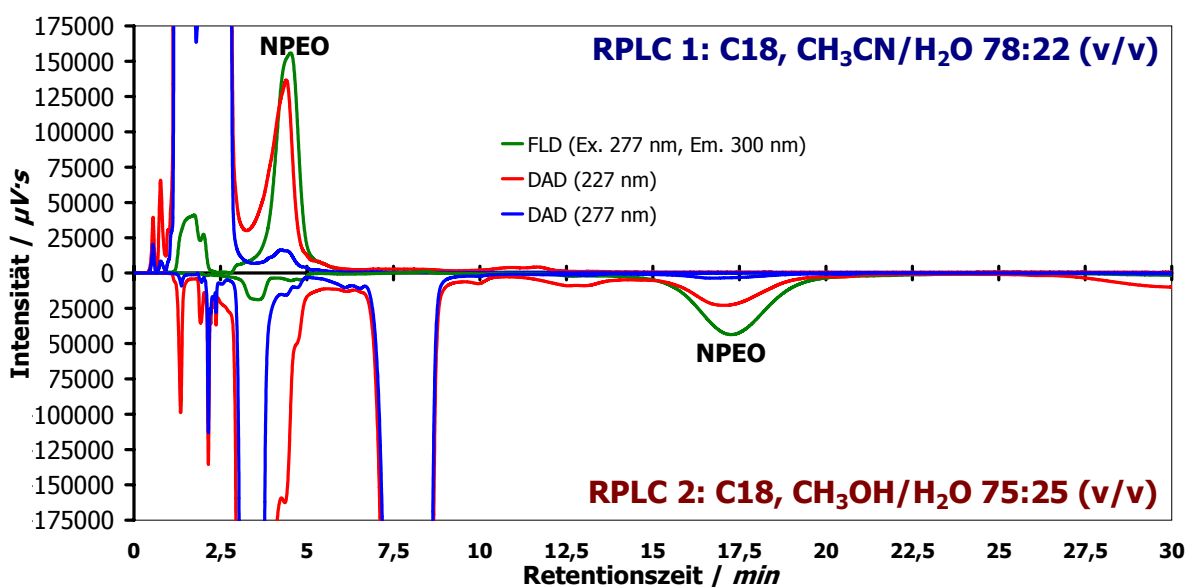


Abbildung 6.64: Einfluss der mobilen und der stationären Phase sowie der Detektion auf die Selektivität der RPLC bei der Bestimmung von NPEO am Beispiel des Suspensionskonzentrates PSM6 (nach Fest-Flüssig-Extraktion von 1,763 g mit 100 ml Ethanol). Die RPLC1 und RPLC2 (inverses Chromatogramm) unterscheiden sich in der mobilen Phase und in der Säulendimension bei gleicher stationärer Phase (RPLC1: 5 μm Eurosphere 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), RPLC2: 5 μm Eurosphere 100 C18 (250 mm x 4 mm I.D.), beide bei 1,0 ml \cdot min $^{-1}$ und 20 °C).

Für die Bestimmung von NPEO in dem Extrakt von PSM6 nach Fest-Flüssigextraktion mit Ethanol (Schüttelmethode) reichte die Trennleistung der 5 μm Eurosphere 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.) unter Verwendung von Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v) (RPLC1) nicht aus, um NPEO ausreichend von einem intensiven Matrixpeak zu trennen. Wurde hingegen eine doppelt so lange Säule (5 μm Eurosphere 100 C18 (250 mm x 4 mm I.D.)) und Methanol / Wasser 75:25 (v/v) (RPLC2) verwendet, ließ sich eine ausreichende Auflösung erzielen. Dennoch war mittels RPLC1 eine Bestimmung der NPEO möglich, nämlich dann, wenn anstelle einer UV-Detektion bei 227 nm eine Detektion bei 277 nm erfolgte. Noch selektiver war die Verwendung eines Fluoreszenzdetektors bei $\lambda_{\text{ex}} = 277 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 300 \text{ nm}$. Ferner wies die Fluoreszenzdetektion eine höhere Empfindlichkeit auf.

Beim Einsatz von UV-Detektoren kommt der Auswahl der zur Detektion am besten geeigneten Wellenlänge eine große Bedeutung zu, da die Wahl der Wellenlänge bei der UV-Detektion über die Selektivität der gesamten Methode entscheiden kann. Nach einer Extraktion von 52,55 mg des emulgierbaren Konzentrates PSM7 mittels SPE war die Ana-

lyse der NPEO durch nicht vollständig abgetrennte Bestandteile der Matrix bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ stark gestört. Die Analyse bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ war hingegen ungestört (s. **Abb. 6.65**).

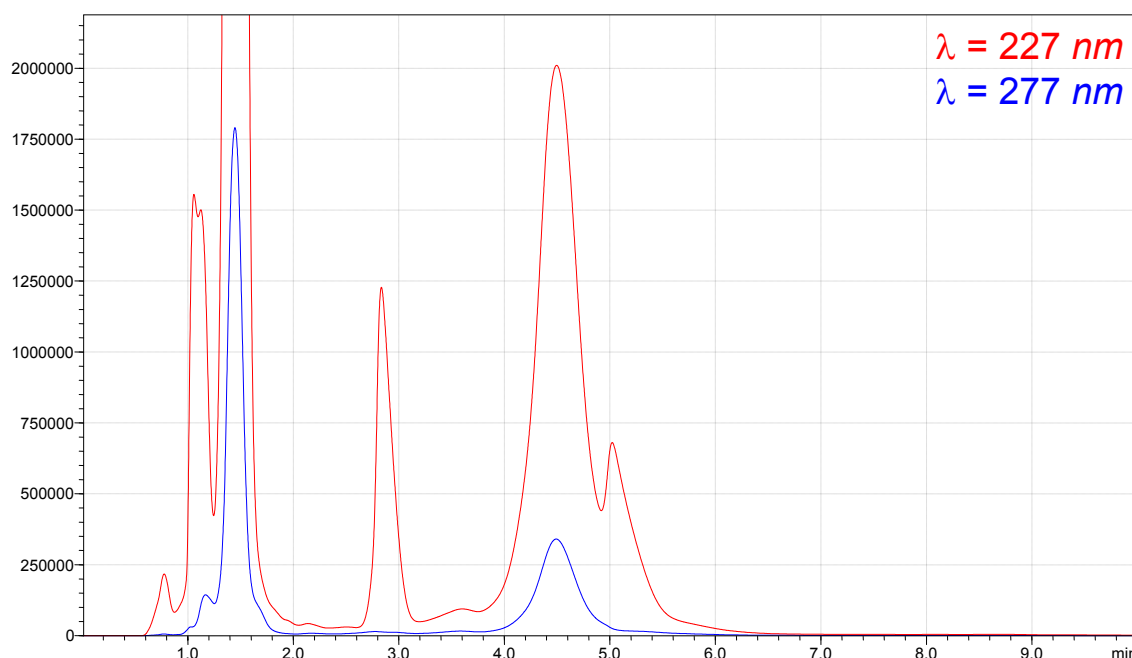


Abbildung 6.65: Auswahl der optimalen Wellenlänge zur Bestimmung von NPEO im emulgierbaren Konzentrat PSM7 nach SPE. Eine NPEO-Bestimmung ist bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ im Gegensatz zu $\lambda = 227 \text{ nm}$ ungestört möglich (RPLC 1, Shimadzu-HPLC 1, UVD, $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm I.D.}$), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20°C).

Aufgrund der Tatsache, dass es sich bei den APEO um Homologengemische handelte, eluierten diese je nach mobiler und stationärer Phase teilweise als relativ breite Peaks, bei denen es auch bei hohen Wasseranteilen in der mobilen Phase zum Leading kommen konnte (s. **Abb. 6.55** S. 214). Dadurch war das Aufspüren von Koelutionen allein anhand der Peakform erschwert. Daher hatte die Durchführung der Analysen bei mindestens zwei Wellenlängen einen hohen diagnostischen Wert, da auf diese Weise Koelutionen sehr sicher identifiziert werden konnten, wie **Abbildung 6.66** verdeutlicht. Mit Hilfe des Vergleichs der beiden bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ aufgezeichneten Chromatogramme konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass es bei der Bestimmung von NPEO in dem emulgierbaren Konzentrat PSM3 nach der SPE von $23,2 \text{ mg}$ zur Koelution von Bestandteilen der Matrix mit NPEO kam, die nicht vollständig durch die SPE abgetrennt werden konnten.

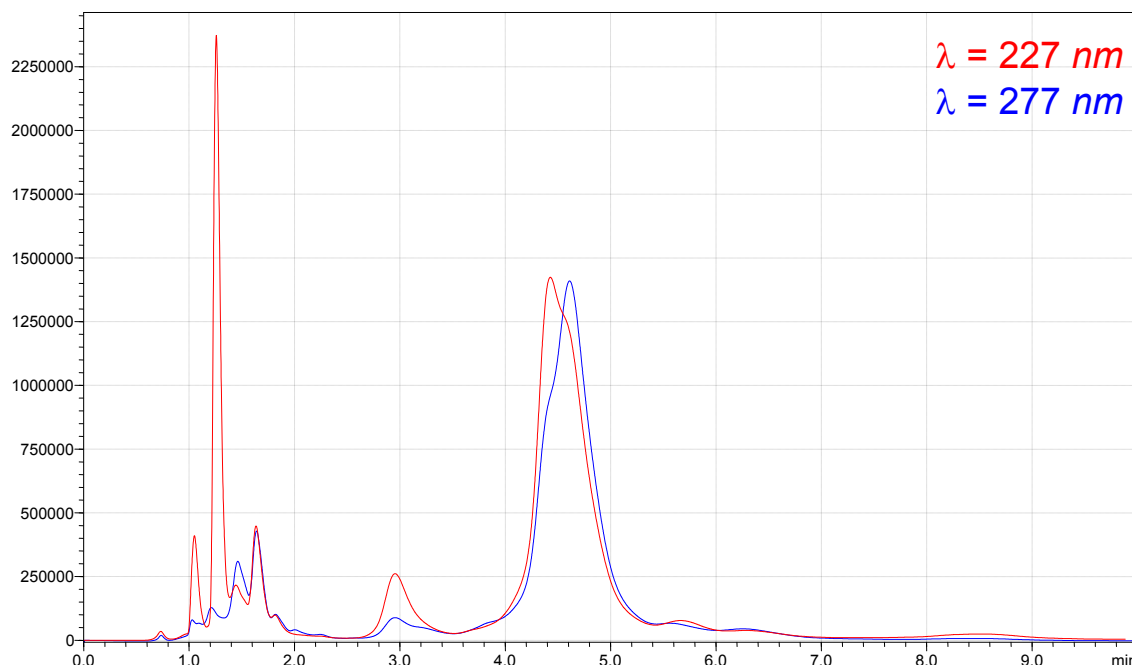


Abbildung 6.66: Aufklärung von Koelution durch Vergleich der bei unterschiedlichen Wellenlängen aufgezeichneten Chromatogramme. Mit Hilfe der bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ aufgezeichneten Chromatogramme konnte nachgewiesen werden, dass es bei der Analyse von PSM3 nach SPE von $23,2 \text{ mg}$ zur Koelution von Bestandteilen der Matrix mit NPEO kam (RPLC 1, Shimadzu-HPLC 1, UVD, $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20°C).

Der durch eine Durchführung von Doppelbestimmungen bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen erhöhte Zeitaufwand konnte vermieden werden, wenn der Diodenarraydetektor verwendet wurde. Dieser hatte im Vergleich zum UV-Detektor deutliche Vorteile. Einerseits konnte er eine sichere Identifikation der APEO über einen Vergleich des UV-Spektrums mit Datenbankspektren, die von unterschiedlichen APEO-Referenzlösungen angelegt wurden (s. **Abb. 6.57** S. 216), gewährleisten. Andererseits führte der Einsatz des DAD deutlich einfacher zur Aufklärung von Koelutionen der Analyten mit Matrixbestandteilen (s. **Abb. 6.67**). Außerdem konnte bei Verwendung des DAD die Auswahl der geeigneten analytischen Wellenlänge auch erst nach der Analyse stattfinden, da bei jeder beliebigen Retentionszeit ein vollständiges UV-Spektrum zur Verfügung stand. Bei der direkten Analyse von emulgierbaren Konzentraten in ethanolischer Lösung brachte der Einsatz des DAD und des FLD aufgrund der großen Matrixstörungen deutliche Vorteile, wie in **Abbildung 6.67** am Beispiele einer Lösung von $0,219 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM3 in Ethanol deutlich wird. Dabei überzeugt der FLD aufgrund seiner überlegenen Selektivität und Empfindlichkeit, während der DAD durch die spektrale Information über eine zusätzliche Dimension verfügt. Auch an diesem Beispiel zeigte sich, dass die Verwendung der

Wellenlänge $\lambda = 277 \text{ nm}$ in den meisten Fällen aufgrund der höheren Selektivität im Vergleich zu $\lambda = 227 \text{ nm}$ die geeignetere analytische Wellenlänge war, da zu längeren Wellenlängen hin die meisten Matrixkomponenten, die die quantitative Auswertung der Chromatogramme aufgrund von Koelution oder schlechter chromatographischer Trennung von den APEO-Peaks störten, weniger stark UV-Strahlung absorbierten. Hier wurde auch der Vorteil der Verwendung des FLD bei einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ und einer Emissionswellenlänge von $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$ sichtbar. Er verfügte im Vergleich zu einer UV-Detektion bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ aufgrund der höheren Empfindlichkeit gegenüber den APEO eindeutig über die höchste Selektivität, da die Matrixeinflüsse am deutlichsten minimiert werden konnten (vgl. FLD und DAD in **Abb. 6.67**).

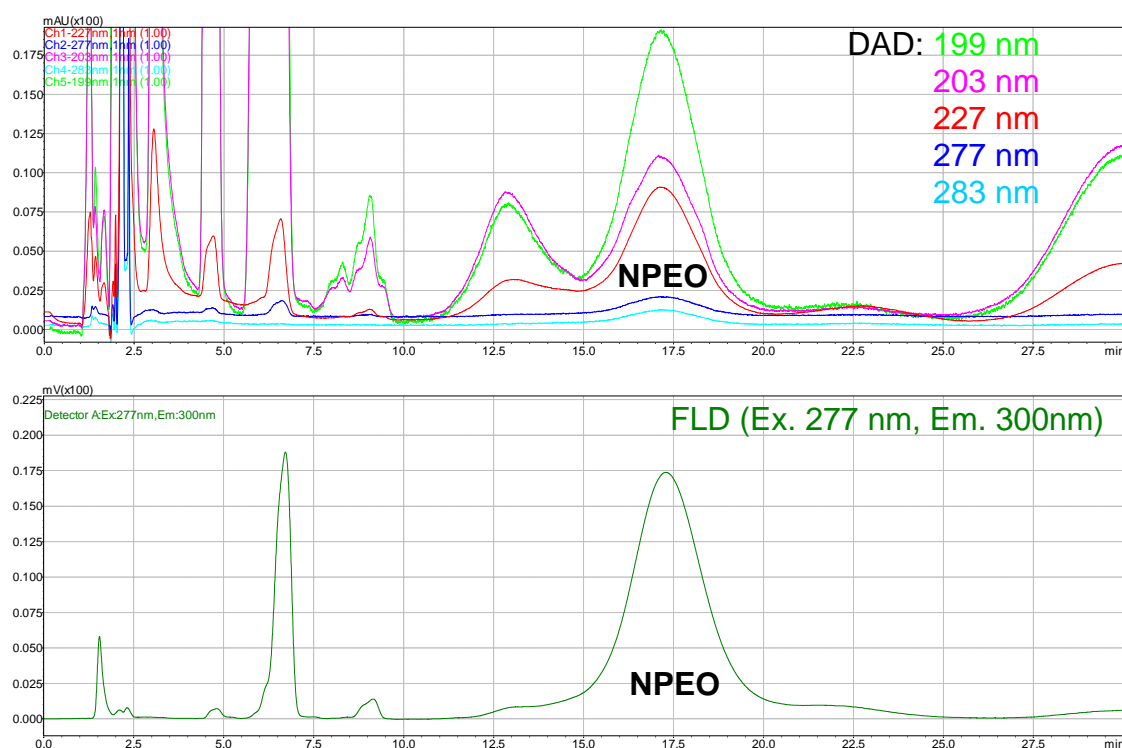


Abbildung 6.67: Vorteile der Verwendung von DAD und FLD bei der Bestimmung von NPEO in Lösungen von emulgierbaren Konzentraten. Es ist das Chromatogramm einer ethanolischen Lösung von $0,219 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM3 dargestellt (RPLC2, Shimadzu-HPLC1, UVD, $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 (250 mm x 4 mm I.D.), Methanol / Wasser 75:25 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20°C).

Anhand der dargestellten Beispiele konnte verdeutlicht werden, dass der Einsatz des Fluoreszenzdetektors aufgrund seiner hohen Selektivität bei der RPLC von PSM deutliche Vorteile gegenüber einer UV-Detektion aufwies, so dass sofern der FLD für die Analysen der PSM zur Verfügung stand, die Quantifizierung mit diesem Detektor sowohl bei der RPLC 1 als auch bei der RPLC 2 erfolgte. Wenn kein FLD, wie bei der Shimadzu HPLC 1

und Agilent-HPLC, verfügbar war, wurde in der Regel mittels UV-Detektion bei $\lambda_{ex} = 277 \text{ nm}$ detektiert.

Welchen Einfluss die unterschiedliche Selektivität sowohl der beiden unterschiedlichen chromatographischen Methoden RPLC 1 und RPLC 2 als auch der APEO-Detektion auf die Ergebnisse hatte, kann anhand der **Abbildung 6.68** gesehen werden.

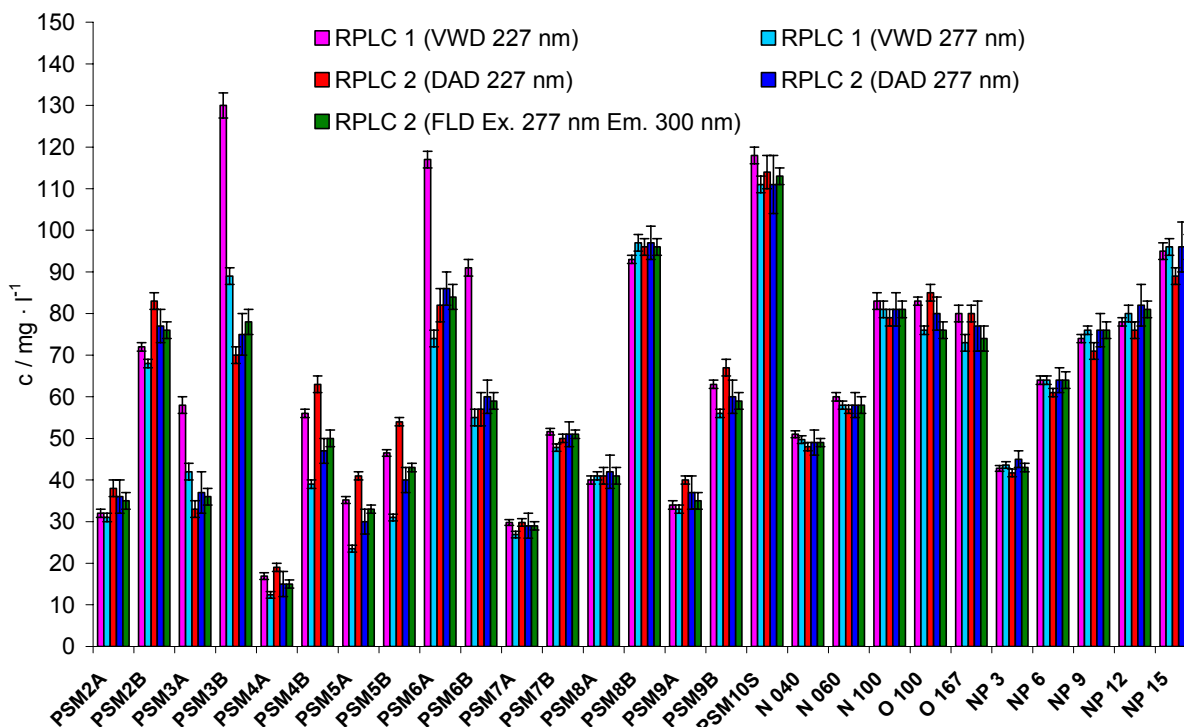


Abbildung 6.68: Mit unterschiedlichen Methoden ermittelte APEO-Konzentrationen in PSM-Lösungen und Extrakten. Es wurden ethanolische Lösungen von PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8 sowie Ethanolextrakte von PSM 2, PSM 6, PSM 9 und der aufgestockte Probe PSM 10 untersucht. Es sind ebenfalls die Ergebnisse von Lösungen verschiedener APEO-Standards dargestellt (ESTD: Arkopal N 100 / Marlophen NP 9).

In **Abbildung 6.68** sind die mit den beiden Methoden RPLC 1 und RPLC 2 unter Verwendung unterschiedlicher Detektoren ermittelten APEO-Konzentrationen in ethanolischen Lösungen von PSM 3, PSM 4, PSM 5, PSM 7 und PSM 8 sowie in den Extrakten von PSM 2, PSM 6, PSM 9 und der aufgestockten Probe PSM 10 nach Fest-Flüssig-Extraktion mit Ethanol dargestellt. Zum Vergleich sind auch die ermittelten Konzentrationen von Lösungen unterschiedlicher APEO-Standards dargestellt. Es wird deutlich, dass es mit beiden Methoden unabhängig von der Detektion für die reinen Lösungen von APEO zu relativ guten Übereinstimmungen in den Ergebnissen kommt. Bei den untersuchten PSM-Proben kann es aufgrund der oben dargelegten Matrixeinflüsse zu deutlichen Unterschieden kommen. Die Ergebnisse weichen daher für PSM 3, PSM 4, PSM 5 und PSM 6

voneinander ab. Für die anderen Proben ergaben sich relativ gute Übereinstimmungen mit maximalen Abweichungen $< 15\%$. Bei dem emulgierbaren Konzentrat PSM 3 sowie dem Suspensionskonzentrat PSM 6 wurden teilweise Abweichungen $> 60\%$ beobachtet, wobei die RPLC 1 mit einer UV-Detektion bei $\lambda = 227\text{ nm}$ aufgrund ihrer geringen Selektivität die mit Abstand größten Abweichungen aufwies. Für PSM 4 und PSM 5 konnten diese immerhin noch bis zu 50% betragen. Die ermittelten Abweichungen bei einer UV-Detektion bei $\lambda = 277\text{ nm}$ oder einer Fluoreszenzdetektion sind zwischen den beiden Methoden RPLC 1 und RPLC 2 deutlich geringer. Er kommt aber immer noch zu signifikanten Abweichungen zwischen den Proben PSM 3, PSM 4, PSM 5 und PSM 6, wie eine Kreuzvalidierung zwischen RPLC 2-FLD und RPLC 1-VWD ($\lambda = 277\text{ nm}$) zeigte (s. **Abb. 6.69**). Für diese Proben kommt es zwischen diesen beiden Methoden zu Abweichungen $> 10\%$. Für alle anderen Proben sind die Abweichungen $\leq 10\%$. Für die Referenzproben, also die Lösungen der reinen APEO-Standards, lassen sich keine Abweichungen feststellen.

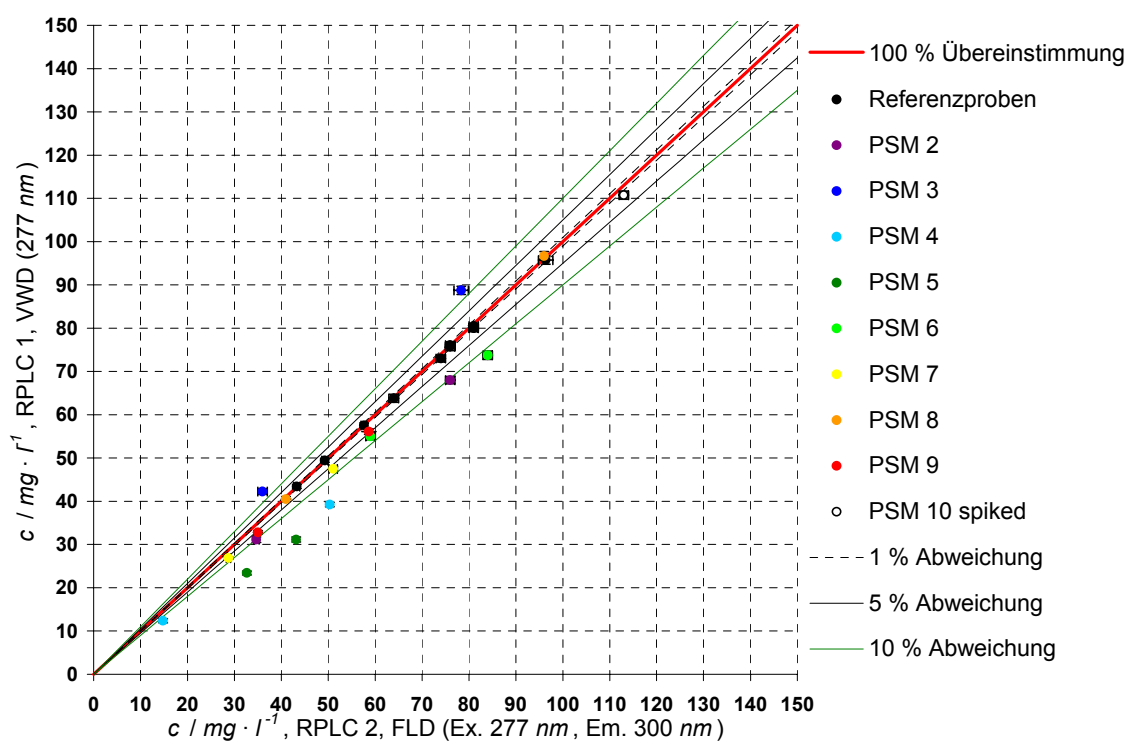


Abbildung 6.69: Kreuzvalidierung der beiden Methoden RPLC 1 (FLD, $\lambda_{ex} = 277\text{ nm}$, $\lambda_{em} = 300\text{ nm}$) und RPLC 2 (VWD, $\lambda = 277\text{ nm}$) (ESTD: Arkopal N 100 / Marlophen NP 9).

6.5.4 LC-LC-Kopplung einer C18- mit einer C8-Phase

Wie sich gezeigt hatte (s. **Abs. 6.5.3**), konnte zwar durch Erhöhen des Wasseranteils in der mobilen Phase eine bessere Trennung zwischen Matrixbestandteilen und den APEO erreicht werden, dabei musste aber in Kauf genommen werden, dass eine starke Peakverbreiterung stattfindet und eine zunehmende, vom mittleren Ethoxylierungsgrad abhängige Verschiebung der Retentionszeiten zwischen den verschiedenen APEO stattfindet.

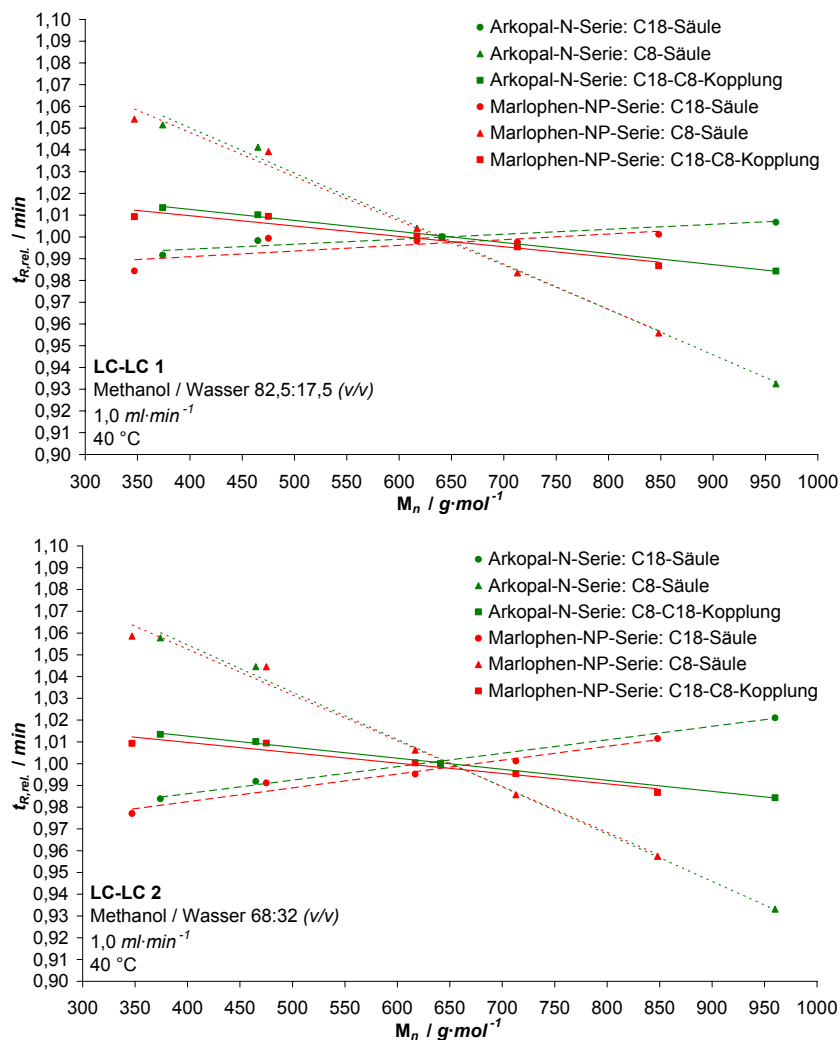


Abbildung 6.70: Abhängigkeit der relativen Retentionszeiten von der mittleren Molmasse der NPEO für eine C18-Phase (5 μ m Eurospher 100 C18 125 mm x 4 mm I.D.) und eine C8-Phase (5 μ m Zorbax Eclipse XDB-C8 150 mm x 4,6 mm I.D.) sowie eine C18-C8-Kopplung dieser beiden Phasen. Es sind auf Arkopal N 100 bezogene relative Retentionszeiten angegeben.

Da dieser Effekt für die C8-Phase und die C18-Phase je nach Zusammensetzung der mobilen Phase genau entgegengesetzt verlaufen kann, entstand die Idee, durch die Kopplung

dieser beiden Phasen eine Refokussierung der APEO zu erreichen. Bei dem verwendeten System Methanol / Wasser ließ sich für die C18-Phase eine andere Elutionsreihenfolge wie für die C8-Phase beobachten (s. **Abb. 6.70**). Bei hohen Wasseranteilen in der mobilen Phase eluieren die APEO mit höherem \bar{n}_{EO} deutlich früher von der C8-Phase als die APEO mit kurzer Polyoxyethylengruppe. Für die C18-Phase ist die Reihenfolge genau umgekehrt. Da bei der RPLC die Peakverbreiterung sehr stark gerade von diesem Effekt verursacht wird, ist die Peakverbreiterung bei der Analyse von APEO mit breiter Ethoxymerenverteilung besonders hoch. Durch die Kopplung zweier Phasen, die eine umgekehrte Abhängigkeit der Elutionsreihenfolge vom Ethoxyierungsgrad aufweisen, kommt es auf der zweiten Dimension dann zu einer Refokussierung der APEO mit unterschiedlichem Ethoxyierungsgrad, so dass trotz deutlich gesteigerter Trennzeiten keine übermäßige Peakverbreiterung auftritt (s. a. **Abb. 6.73**).

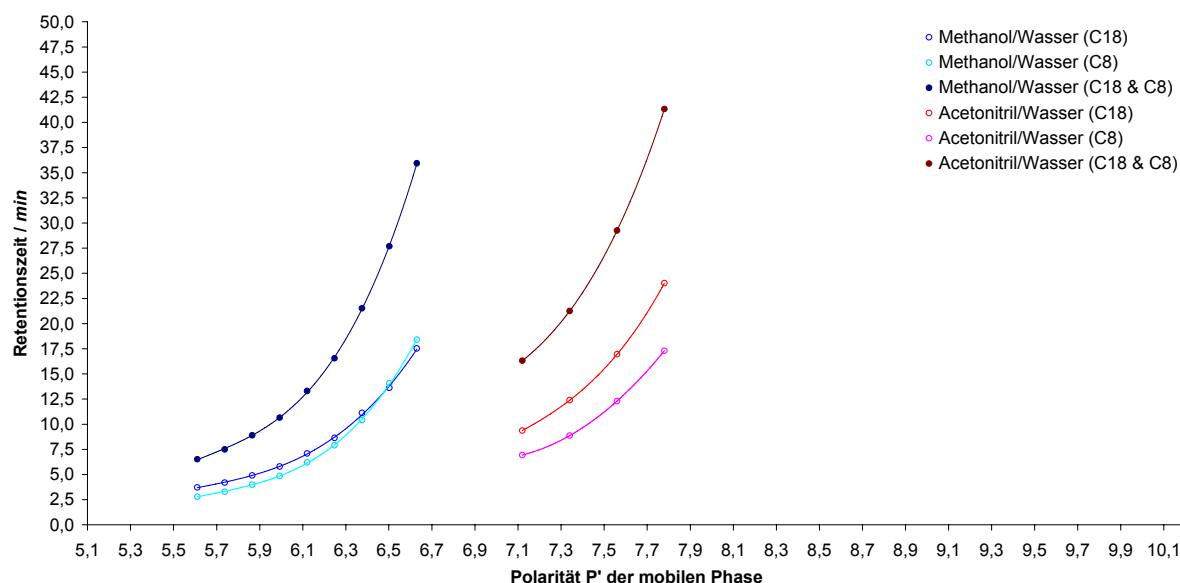


Abbildung 6.71: Abhängigkeit der Retentionszeit von Marlophen NP3 von der Polarität der mobilen Phase für eine C18-Phase ($5\mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 $125\text{ mm} \times 4\text{ mm}$ I.D.) und eine C8-Phase ($5\mu\text{m}$ Zorbax Eclipse XDB-C8 $150\text{ mm} \times 4,6\text{ mm}$ I.D.) sowie eine C18-C8-Kopplung dieser beiden Phasen (Die Polarität der Gemische wurde nach L. R. Snyder [343] berechnet nach $P'_{\text{Mischung}} = (V_{LMA} \cdot P'_{LMA} + V_{LMB} \cdot P'_{LMB}) \cdot (V_{LMA} + V_{LMB})^{-1}$ mit $P'_{\text{Wasser}} = 10,2$, $P'_{\text{Methanol}} = 5,1$ und $P'_{\text{Acetonitril}} = 5,8$).

Auf diese Weise kann durch Steigerung der Polarität der mobilen Phase, die zur stärkeren Retardierung der APEO führt (s. **Abb. 6.71**), eine verbesserte Trennung von den Matrixbestandteilen erreicht werden. Zusätzlich wird durch die Kopplung beider Säulen eine erhöhte Trennstufenzahl erreicht. Eine verbesserte Selektivität würde auch für die eindimensionale RPLC durch Steigerung der Polarität gelingen oder durch die Vergrößerung

der Säulenlänge. In beiden Fällen führt dies aber zu deutlichen Peakverbreiterungen, die dann bei zwar gesteigerter Selektivität jedoch zu schlechteren Auflösungen führt. Durch die C18-C8-Kopplung kann wegen der umgekehrten Abhängigkeit der Elutionsreihenfolge vom Ethoxylierungsgrad durch den oben beschriebenen Refokussierungseffekt einer übermäßigen Peakverbreiterung entgegengewirkt werden.

Weiterhin kann mit Hilfe der HPLC-Konfiguration, die in **Abbildung 5.2** (s. S. 120) dargestellt ist, durch Zuschalten der zweiten Säule ein großer Teil der Matrix dadurch ausgeblendet werden, dass der Anteil, der vor dem Zuschalten bereits von der 1. Dimension eluiert wurde, nicht auf die 2. Dimension gelangt. Der richtige Zeitpunkt zum Zuschalten der 2. Säule wurde jeweils anhand von Testläufen mit Lösungen von APEO durchgeführt, die in ihrem mittleren Ethoxylierungsgrad den APEO entsprachen, die in der jeweiligen Proben enthalten waren. Die 2. Säule wurde jeweils erst unmittelbar vor der Elution des entsprechenden APEO von der 1. Dimension zugeschaltet, um möglichst große Bestandteile der Matrix auszublenden. Daher erfolgte eine Optimierung der Zuschaltzeiten probenabhängig.

Dasselbe gilt für die Zusammensetzung der mobilen Phase. Es stellte sich schnell heraus, dass aufgrund der unterschiedlichen Probenmatrices nicht dasselbe Lösemittelsystem für alle Proben gleichermaßen geeignet war. Es wurden für die isokratische Elution bei der LC-LC verschiedene Zusammensetzungen der mobilen Phase getestet. Dabei wurden ebenfalls die beiden Lösemittelsystem Acetonitril / Wasser und Methanol / Wasser mit verschiedenen Wasseranteilen untersucht. Je nach Wasseranteil in der untersuchten mobilen Phase musste eine Erhöhung der Temperatur vorgenommen werden, wenn mit $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ eluiert werden sollte, da ansonsten der Druck beim Zuschalten der 2. HPLC-Säule zu stark anstieg.

Es zeigte sich, dass die beiden emulgierbaren Metolachlorkonzentrate PSM 4 und PSM 5 mit derselben mobilen Phase analysiert werden konnten, da es sich um sehr ähnliche Formulierungen handelte, die NPEO mit nahezu gleichem mittleren Ethoxylierungsgrad ($\bar{n} = 4,2$ und $\bar{n} = 4,01$) enthielten. Diese beiden Proben ließen sich zusammen mit dem optimierten Lösemittelsystem bestehend aus Methanol / Wasser 68:32 (v/v) bei einer Flussrate von $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 40°C (s. Methode LC-LC 2 in **Tab. 5.19** S. 124) analysieren. Das Chromatogramm einer Lösung von $9,28 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 5 ist in **Abbildung 6.72** dargestellt.

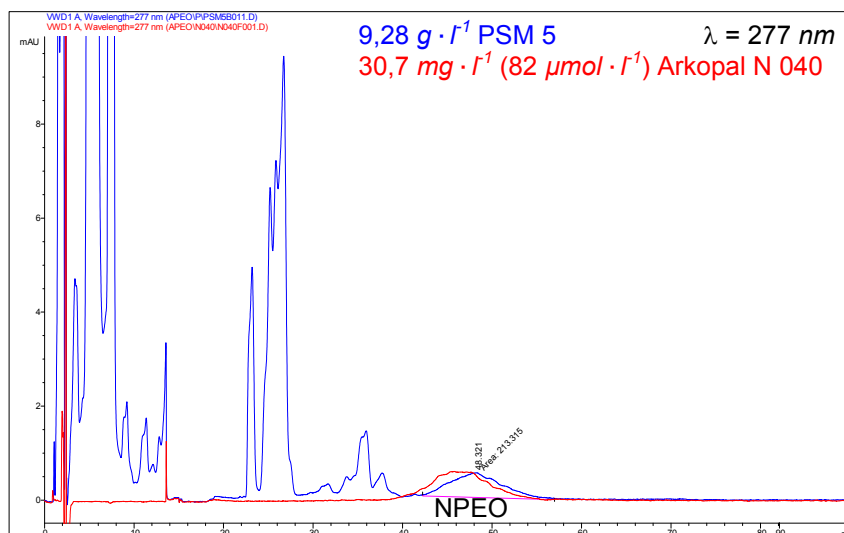


Abbildung 6.72: C18-C8-Kopplung für die optimierte Trennung von NPEO mittels LC-LC in PSM 4 und PSM 5. Beispielhaft ist das Chromatogramm einer ethanolischen Lösung von $9,28 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 5 dargestellt. Zum Vergleich ist ebenfalls eine Lösung von $30,7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ Arkopal N 040 in Ethanol abgebildet. Die Lösungen wurden mit der Methode LC-LC 2 gemessen (Agilent-HPLC, VWD $\lambda = 277 \text{ nm}$, 1. Dim. $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), 2. Dim. $5 \mu\text{m}$ Zorbax Eclipse XDB-C8 (150 mm x 4,6 mm I.D.), Methanol / Wasser 68:32 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 40°C , s. **Tab. 5.19** S. 124).

Für die NPEO-Bestimmung in ethanolischen Lösungen des emulgierbaren Konzentrates PSM 3 und dem ethanolischen Extrakt von PSM 6 nach Fest-Flüssig-Extraktion (Schüttelmethode) wurde eine andere Zusammensetzung der mobilen Phase verwendet. Beide NPEO wiesen ähnliche mittlere Ethoxylierungsgrade von $\bar{n} = 9,41$ (PSM 3) und $\bar{n} = 9,0$ (PSM 6) auf. Das für diese beide Proben optimierte Lösemittelsystem bestand aus Methanol / Wasser 82,5:17,5 (v/v) bei einer Flussrate von $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ und einer Säulentemperatur von 40°C (s. Methode LC-LC 1 in **Tab. 5.19** S. 124). Wie **Abbildung 6.73** zeigt, läßt sich mit dieser mobilen Phase eine Trennung zwischen NPEO und Matrixbestandteilen der beiden Formulierungen PSM 3 und PSM 6 erreichen, die bei der eindimensionalen RPLC 1 koeluieren und speziell bei einer Detektion mit $\lambda = 277 \text{ nm}$ zu deutlichen Überbefunden führen. Auch hier zeigt die Wellenlänge von $\lambda = 277 \text{ nm}$ im Vergleich zu $\lambda = 227 \text{ nm}$ eine höhere Selektivität für NPEO.

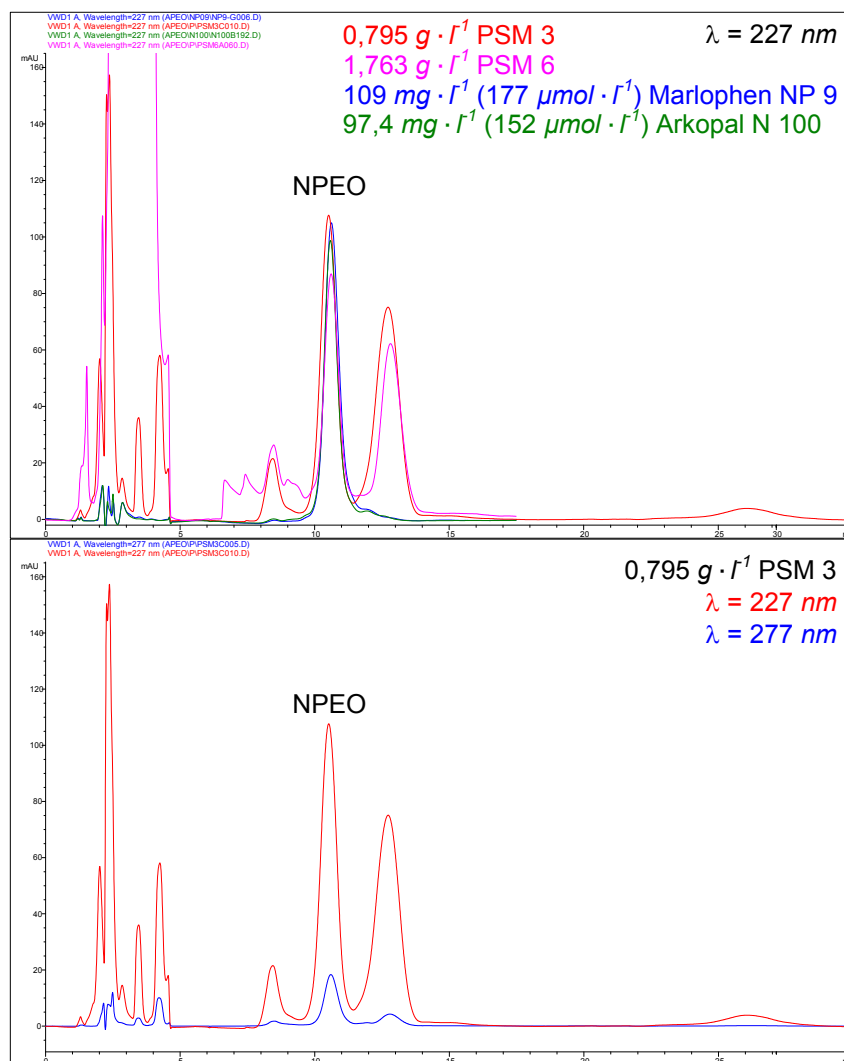


Abbildung 6.73: C18-C8-Kopplung für die optimierte Trennung der APEO mittels LC-LC in PSM 3 und PSM 6. Es sind die Chromatogramme der ethanolischen Lösung von PSM 3 und des ethanolischen Extraktes von PSM 6 nach Fest-Flüssig-Extraktion sowie die ethanolischen Lösungen von Marlophen NP 9 und Arkopal N 100 dargestellt. Die Lösungen wurden mit der Methode LC-LC 1 gemessen (Agilent-HPLC, VWD $\lambda = 227 \text{ nm}$ und $\lambda = 277 \text{ nm}$, 1. Dim. $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.), 2. Dim. $5 \mu\text{m}$ Zorbax Eclipse XDB-C8 ($150 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$ I.D.), Methanol / Wasser 82,5:17,5 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 40°C , s. **Tab. 5.19** S. 124).

Um später eine Kreuzvalidierung der LC-LC-Bestimmungen durchführen zu können, wurden die Analysen der Proben sowohl bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ als auch bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ durchgeführt. Zusätzlich wurden Lösungen von Standards in demselben Konzentrationsbereich untersucht. Die Ergebnisse der NPEO-Bestimmungen mittels LC-LC, die für PSM 3, PSM 4 und PSM 5 anhand von ethanolischen Lösungen durchgeführt wurden, sind in **Tabelle 6.11** angegeben. Es wurden ebenfalls die ethanolischen Extrakte von PSM 6, die

nach der Fest-Flüssig-Extraktion (Schüttelmethode, s. **Abs. 6.1.4**) erhalten wurden, untersucht (s. ebenfalls **Tab. 6.11**).

Tabelle 6.11: Mittels LC-LC ermittelte NPEO-Konzentrationen in den emulgierbaren Konzentraten PSM 3, PSM 4, PSM 5 und dem Suspensionskonzentrat PSM 6. Es wurden jeweils Dreifachbestimmungen von PSM 3, PSM 4 und PSM 5 in ethanolschen Lösungen durchgeführt. PSM 6 wurde nach Fest-Flüssig-Extraktion (Schüttelmethode) analysiert .

	NPEO-Gehalt / % (<i>w/w</i>)	
	$\lambda = 227 \text{ nm}$	$\lambda = 277 \text{ nm}$
LC-LC 1: Methanol / Wasser 82,5:17,5 (<i>v/v</i>)		
(ESTD: Arkopal N 100 / Marlophen NP 9)		
PSM 3	$14,8 \pm 0,5$	$14,4 \pm 0,5$
PSM 6	$0,42 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$
LC-LC 2: Methanol / Wasser 68:32 (<i>v/v</i>)		
(ESTD: Arkopal N 040)		
PSM 4	$0,32 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,03$
PSM 5	$0,28 \pm 0,01$	$0,271 \pm 0,002$

Im Vergleich zur eindimensionalen RPLC weisen die Ergebnisse aller untersuchten Proben bei der LC-LC keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden zur UV-Detektion verwendeten Wellenlängen auf. Die beobachteten Unterschiede zwischen den für beide Wellenlängen ermittelten NPEO-Gehalten sind vernachlässigbar, da sie innerhalb der Meßungenauigkeit liegen. Auch die durchgeführten Kreuzvalidierungen weisen für alle Einzelbestimmung sowohl für Methanol / Wasser 82,5:17,5 (*v/v*) (LC-LC 1 s. **Abb. 6.74**) als auch für Methanol / Wasser 68:32 (*v/v*) (LC-LC 2, s. **Abb. 6.75**) zwischen den beiden Wellenlängen maximale Abweichungen $< 10\%$ auf. In der Mehrzahl der Fälle sind die beobachteten Abweichungen $< 5\%$ und liegen im Bereich der Abweichungen, die für die Lösungen der APEO-Standards zwischen beiden Wellenlängen auftreten.

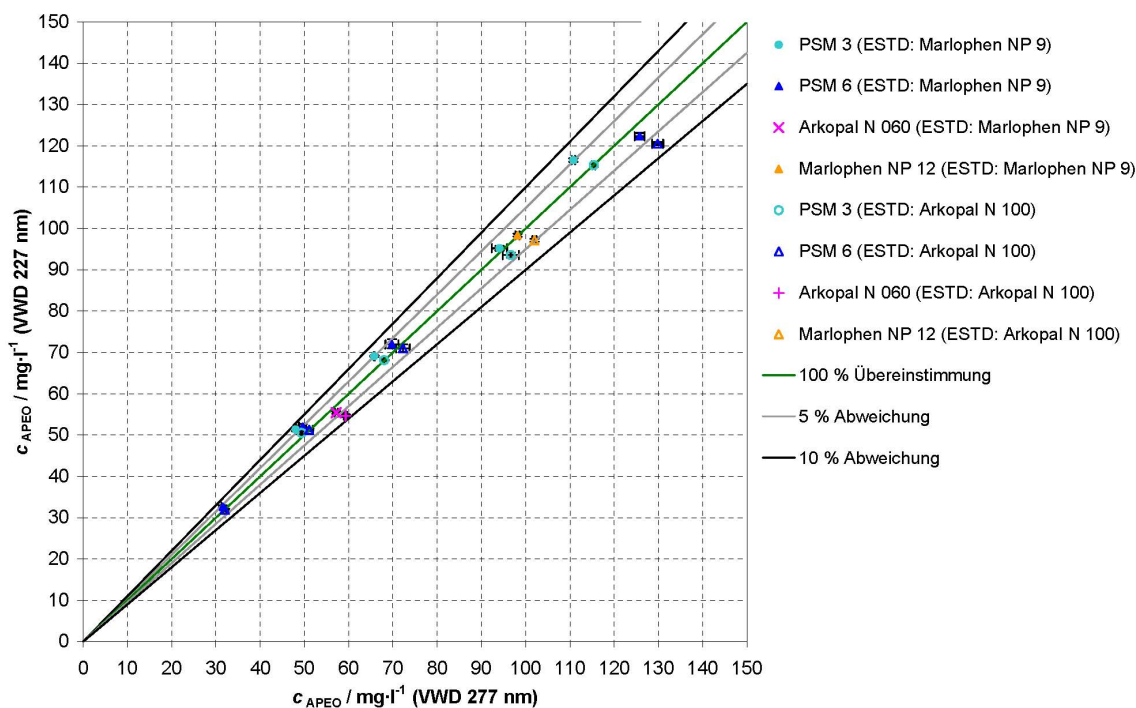


Abbildung 6.74: Vergleich der mittels C18-C8-Kopplung für eine UV-Detektion bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ ermittelten NPEO-Konzentrationen in Lösungen von PSM 3, Extrakten von PSM 6 sowie Lösungen von Arkopal N 040 und Marlophen NP 12 unter Verwendung der Methode LC-LC 1 (ESTD: Marlophen NP 9 / Arkopal N 100, 1. Dim. $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ I.D.), 2. Dim. $5 \mu\text{m}$ Zorbax Eclipse XDB-C8 ($150 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$ I.D.), Methanol/Wasser 82,5:17,5 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 40°C , s. **Tab. 5.19** S. 124).

Um die Richtigkeit der beiden LC-LC-Kopplungsmethoden zusätzlich zu überprüfen, wurden neben der Kreuzvalidierung der Methoden zwischen den beiden Wellenlängen $\lambda = 227 \text{ nm}$ und $\lambda = 277 \text{ nm}$ auch aufgestockte Proben untersucht. Dazu wurden ethanolische Lösungen von PSM 4 und PSM 5 mit Arkopal N 040 aufgestockt. Eine Lösung von $2,60 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 4 wurde mit $\Delta c = 30,7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ aufgestockt, eine Lösung von $7,00 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 5 mit $\Delta c = 20,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Eine Aufstockung von PSM 3 und PSM 6 fand mit Marlophen NP 9 statt. Dazu wurde eine ethanolische Lösung von $0,329 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PSM 3 und ein Extrakt nach Fest-Flüssig-Extraktion von PSM 6 ($120,5 \text{ mg}$ mit 100 ml Ethanol) jeweils um $\Delta c = 48,3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ aufgestockt. Die aufgestockten Proben von PSM 3 und PSM 6 wurden darauf mittels der Methode LC-LC 1 und die aufgestockten Proben von PSM 4 und PSM 5 mittels der Methode LC-LC 2 bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ analysiert. Es zeigte sich anhand der sehr guten Wiederfindungsraten, dass beide zweidimensionalen Kopplungsmethoden zu richtigen Ergebnissen führen. Mittels LC-LC 1 wurden von dem aufgestockten Marlophen NP 9 95 % in PSM 3 und 94 % in PSM 6 wiedergefunden. Die Wiederfindungsraten

von Arkopal N 040 mittels LC-LC 2 betrugen 104 % für PSM 4 und 95,4 % für PSM 5.

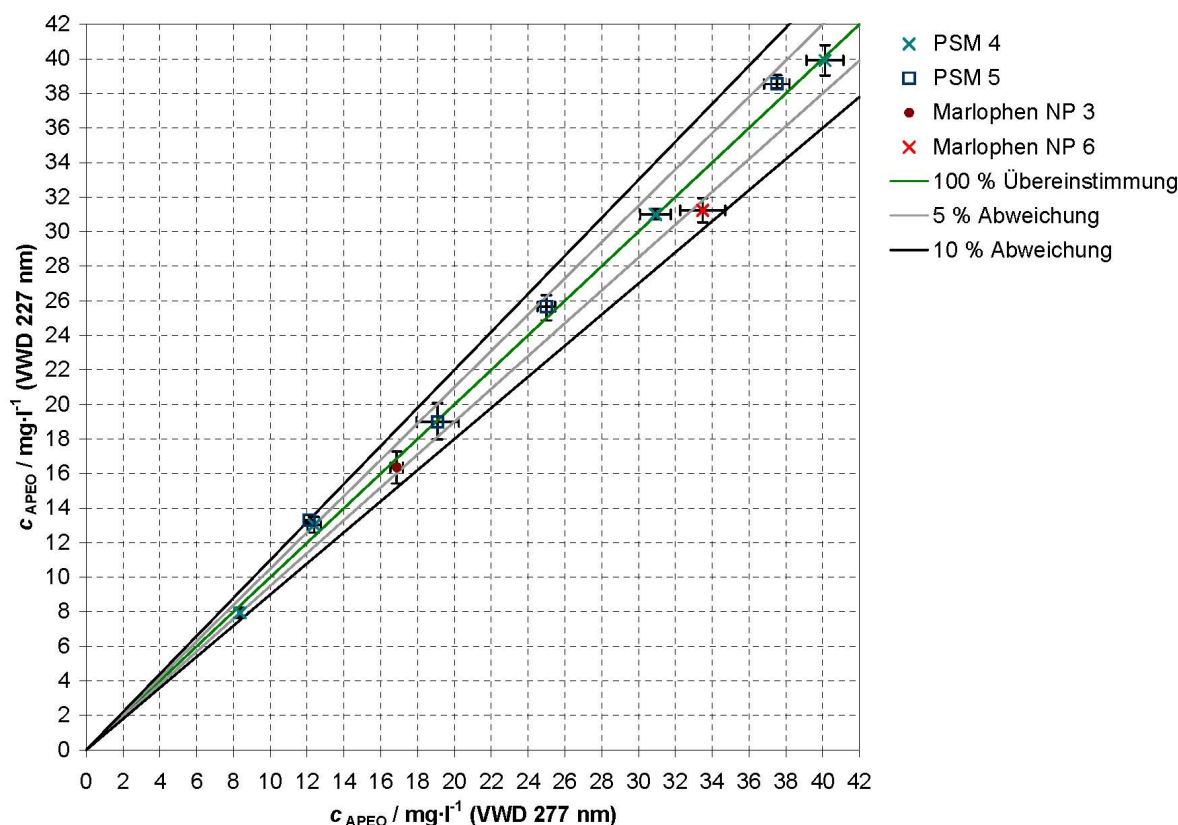


Abbildung 6.75: Vergleich der mittels C18-C8-Kopplung für eine UV-Detektion bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ ermittelten NPEO-Konzentrationen in Lösungen von PSM 4, PSM 5, Marlophen NP 3 und Marlophen NP 6 (ESTD: Arkopal N 040, 1. Dim. $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 ($125 \text{ mm} \times 4 \text{ mm I.D.}$), 2. Dim. $5 \mu\text{m}$ Zorbax Eclipse XDB-C8 ($150 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm I.D.}$), Methanol / Wasser 68:32 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 40°C , s. **Tab. 5.19** S. 124).

Es läßt sich abschließend festhalten, daß durch die LC-LC-Kopplung einer C18-Phase mit einer C8-Phase im Vergleich zur eindimensionalen RPLC eine deutlich verbesserte Trennleistung und eine damit verbundene höhere Selektivität für die APEO erreicht wurden. Dies führte somit zu deutlich verbesserten Ergebnissen bei der Bestimmung von NPEO in PSM. Die selbst nach SPE für das emulgierbare Konzentrat PSM 3 noch beobachteten Matrixeinflüsse aufgrund von Koelution ließen sich durch die Kopplung dieser beiden stationären Phasen nahezu vollständig eliminieren, wie anhand der Ergebnisse sowohl der Kreuzvalidierung als auch der Aufstockungsexperimente gezeigt werden konnte.

6.5.5 Quantifizierung von APEO in Lösungen, PSM und anderen Formulierungen

6.5.5.1 Reinheit der zur Kalibration verwendeten APEO

Da für die Kalibration der Detektoren bei der RPLC keine Reinstsubstanzen sondern lediglich technische APEO-Produkte zur Verfügung standen, wurde neben der Bestimmung der Oligomerenverteilung mittels NPLC-FLD auch eine Elementaranalyse dieser APEO-Tenside durchgeführt, um die Reinheit dieser Tenside überprüfen zu können. So handelte es sich beispielsweise bei Arkopal O 167 und Arkopal O 257 um zwei Produkte, die laut Herstellerangabe lediglich einen APEO-Anteil von 70 % aufwiesen [72]. Die Kennziffer 7 am Ende des Zahlencodes in der Produktbezeichnung bedeutet, dass diese Produkte einen Tensidanteil von 70 % und einen Wasseranteil von 30 % aufweisen sollte.

Mit Hilfe einer Elementbilanzierung lässt sich der Wasseranteil abschätzen. Dazu wurden aus den mittels NPLC-FLD bestimmten mittleren Ethoxylierungsgraden der NPEO und OPEO die für diese Ethoxymerenverteilung zu erwartenden Kohlenstoff-, Sauerstoff- und Wasserstoffgehalte berechnet und mit den mittels Elementaranalyse bestimmten C- und H-Gehalten verglichen (s. **Abb. 6.76**). Die Sauerstoffgehalte wurden aus den C- und H-Werten der Elementaranalyse unter der Annahme, dass die untersuchten Proben nur diese drei Elemente enthielten, abgeleitet.

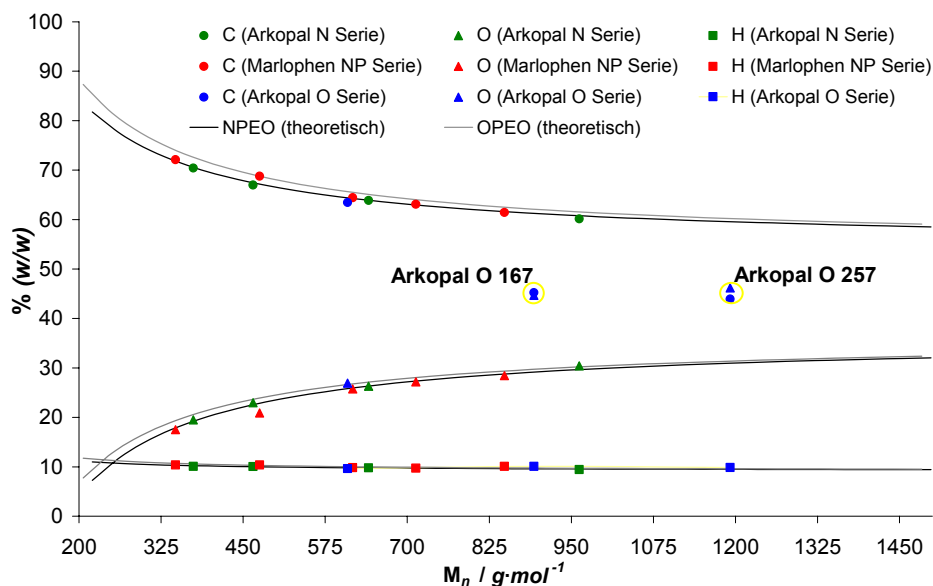


Abbildung 6.76: Abweichung der mit Hilfe der Elementaranalyse in den untersuchten APEO-Tensiden bestimmten von den anhand des mittleren Ethoxylierungsgrades theoretisch zu erwartenden Kohlenstoff-, Sauerstoff- und Wasserstoffgehalten.

Aus den Summenformeln der NPEO ($\text{H}_{19}\text{C}_9\text{-C}_6\text{H}_4\text{-(OC}_2\text{H}_4)_n\text{-OH}$) bzw. der OPEO ($\text{H}_{17}\text{C}_8\text{-C}_6\text{H}_4\text{-(OC}_2\text{H}_4)_n\text{-OH}$) und den Molmassen der Elemente $M_C = 12,011 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, $M_H = 1,00794 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ und $M_O = 15,9994 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ können die C-, H- und O-Anteile (in % (w/w)) für den jeweiligen mittleren Ethoxylierungsgrad \bar{n}_{EO} berechnet werden. Für NPEO gilt:

$$\% \mathbf{C}_{NPEO} = 100 \% \cdot \frac{(15 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C}{(15 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C + (1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O + (24 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H} \quad (6.36)$$

$$\% \mathbf{O}_{NPEO} = 100 \% \cdot \frac{(1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O}{(15 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C + (1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O + (24 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H} \quad (6.37)$$

$$\% \mathbf{H}_{NPEO} = 100 \% \cdot \frac{(24 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H}{(15 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C + (1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O + (24 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H} \quad (6.38)$$

Entsprechend gilt für OPEO:

$$\% \mathbf{C}_{OPEO} = 100 \% \cdot \frac{(14 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C}{(14 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C + (1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O + (22 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H} \quad (6.39)$$

$$\% \mathbf{O}_{OPEO} = 100 \% \cdot \frac{(1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O}{(14 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C + (1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O + (22 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H} \quad (6.40)$$

$$\% \mathbf{H}_{OPEO} = 100 \% \cdot \frac{(22 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H}{(14 + 2 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_C + (1 + \bar{n}_{EO}) \cdot M_O + (22 + 4 \cdot \bar{n}_{EO}) \cdot M_H} \quad (6.41)$$

Aus den auf diese Weise berechneten, theoretischen Kohlenstoff- sowie Wasserstoffgehalten konnte die Reinheit anhand der Abweichung von den tatsächlichen, mittels Elementaranalyse bestimmten Gehalten dieser beiden Elemente abgeschätzt werden (s. **Tab. 6.12**).

Tabelle 6.12: Relative Abweichungen der aus den mittleren Ethoxylierungsgraden berechneten von den mittels Elementaranalyse bestimmten Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalten der untersuchten APEO-Tenside. Allen Daten basieren auf Mehrfachbestimmungen mit $N = 5$.

Handelsname	\bar{n}_{EO}	mittels EA bestimmt		aus \bar{n}_{EO} berechnet		relative Abw. / %	
		% C (w/w)	% H (w/w)	% C (w/w)	% H (w/w)	C	H
Arkopal N 040	$3,49 \pm 0,02$	$70,43 \pm 0,01$	$10,09 \pm 0,01$	$70,57 \pm 0,40$	$10,23 \pm 0,06$	0,20	1,36
Arkopal N 060	$5,56 \pm 0,04$	$66,99 \pm 0,01$	$10,05 \pm 0,01$	$67,43 \pm 0,49$	$10,02 \pm 0,07$	0,65	-0,33
Arkopal N 100	$9,5 \pm 0,2$	$63,89 \pm 0,01$	$9,80 \pm 0,01$	$63,92 \pm 1,35$	$9,78 \pm 0,21$	0,05	-0,19
Arkopal N 200	$16,8 \pm 0,5$	$60,14 \pm 0,01$	$9,43 \pm 0,01$	$60,78 \pm 1,81$	$9,57 \pm 0,28$	1,06	1,49
Arkopal O 100	$9,14 \pm 0,03$	$63,47 \pm 0,01$	$9,63 \pm 0,01$	$63,67 \pm 0,21$	$9,69 \pm 0,03$	0,31	0,65
Arkopal O 167	$15,60 \pm 0,06$	$45,22 \pm 0,01$	$10,10 \pm 0,01$	$60,76 \pm 0,23$	$9,52 \pm 0,04$	34,36	-5,74
Arkopal O 257	$22,4 \pm 0,7$	$43,94 \pm 0,01$	$9,87 \pm 0,01$	$59,19 \pm 1,85$	$9,43 \pm 0,29$	34,71	-4,48
Marlophen [®] NP 3	$2,87 \pm 0,03$	$72,12 \pm 0,01$	$10,38 \pm 0,01$	$71,83 \pm 0,75$	$10,31 \pm 0,11$	-0,40	-0,65
Marlophen [®] NP 6	$11,18 \pm 0,07$	$68,77 \pm 0,01$	$10,36 \pm 0,01$	$67,16 \pm 0,35$	$10,00 \pm 0,05$	-2,34	-3,48
Marlophen [®] NP 9	$5,78 \pm 0,03$	$64,43 \pm 0,01$	$9,82 \pm 0,01$	$64,25 \pm 0,29$	$9,80 \pm 0,04$	-0,28	-0,16
Marlophen [®] NP 12	$9,01 \pm 0,04$	$63,10 \pm 0,01$	$9,73 \pm 0,01$	$62,95 \pm 0,39$	$9,72 \pm 0,06$	-0,24	-0,14
Marlophen [®] NP 15	$14,26 \pm 0,06$	$61,46 \pm 0,01$	$10,10 \pm 0,01$	$61,60 \pm 0,26$	$9,63 \pm 0,04$	0,23	-4,69

Mit Ausnahme der bereits oben erwähnten Arkopal O 167 und Arkopal O 257 lagen die Abweichungen der aus \bar{n}_{EO} berechneten von den mittels Elementaranalyse bestimmten Werten für Kohlenstoff innerhalb von $\pm 2,5\%$. Diese Größe stellt eine noch akzeptierbare Reinheit der APEO dar, da für die meisten Proben die Abweichungen sogar deutlich geringer waren. Bei sieben der zwölf untersuchten Tenside waren sie im Bereich von $\pm 0,5\%$. Für Wasserstoff waren die relativen Abweichungen wegen des geringeren Anteils etwas höher. Sie waren im Bereich von $\pm 6\%$. Bei 6 APEO waren sie lediglich in der Größenordnung von $\pm 1\%$. Der bei der Kalibration gemachte Fehler sollte sich somit unter Verwendung dieser APEO-Tenside in Grenzen halten. Um die Richtigkeit der Ergebnisse zu erhöhen und systematische Fehler zu minimieren wurden die Kalibrationen so durchgeführt, dass jeweils zwei APEO von unterschiedlichen Herstellern mit annähernd selben \bar{n}_{EO} zur Kalibration verwendet wurden (s. hierzu a. **Abs. 6.5.5.4**).

Wegen ihres hohen Wasseranteils wurden die beiden Tenside Arkopal O 167 und Arkopal O 257 zu Kalibrationszwecken bei der APEO-Bestimmung in PSM nicht verwendet. Falls sie zu Vergleichszwecken bei der Methodenentwicklung und -überprüfung verwendet wurden, wurden die Einwaagen entsprechend um den Wassergehalt korrigiert. Dazu wurde der Wassergehalt aus den Ergebnissen der Elementaranalysen und der Bestimmungen mittels NPLC-FLD ermittelt. Unter der Annahme, dass neben dem APEO nur noch Wasser im Tensid enthalten ist, ergibt sich der Wasseranteil c_{H_2O} (in $\% (w/w)$) in dem Tensid

aus der Gesamtmasse m_{Tensid} des Tensids und der Masse m_{APEO} der darin enthaltenen APEO:

$$\begin{aligned} c_{H_2O} &= \frac{m_{Tensid} - m_{APEO}}{m_{Tensid}} \cdot 100 \% \\ &= \left(1 - \frac{m_{APEO}}{m_{Tensid}} \right) \cdot 100 \% \end{aligned} \quad (6.42)$$

Aus

$$\% C_{APEO} = \frac{m_{C,APEO}}{m_{APEO}} \cdot 100 \% \quad (6.43)$$

und

$$\% C_{Tensid} = \frac{m_{C,Tensid}}{m_{Tensid}} \cdot 100 \% \quad (6.44)$$

folgt wegen $m_{C,APEO} = m_{C,Tensid}$ unmittelbar:

$$c_{H_2O} = \left(1 - \frac{\% C_{Tensid}}{\% C_{APEO}} \right) \quad (6.45)$$

Mit Hilfe der **Gl. 6.45** und den in **Tabelle 6.12** angegebenen Werten für den mittels Elementaranalyse bestimmten C-Gehalt im Tensid und dem mittels NPLC-FLD ermittelten mittleren C-Gehalt in dem entsprechenden APEO wurde ein Wassergehalt von $(25,6 \pm 0,1) \%$ in Arkopal O 167 und $(25,8 \pm 0,8) \%$ in Arkopal O 257 ermittelt. Diese Wassergehalte wurden bei der Berechnung der Stoffmengenkonzentrationen entsprechend berücksichtigt.

6.5.5.2 Kalibrierstrategie zur Quantifizierung von APEO

Die quantitative Bestimmung von Stoffgruppen, die sich aus einer Reihe unterschiedlicher Einzelverbindungen zusammensetzen, verlangt eine auf die jeweilige Stoffgruppe abgestimmte Kalibrierstrategie, da eine Erfassung jeder Einzelverbindung in der Regel aufgrund des hohen Aufwandes nicht praktikabel ist. Meistens wird sie auch nicht der jeweiligen analytischen Fragestellung gerecht, da es für bestimmte Stoffgruppen neben den Grenzwerten für einzelne Mitglieder meistens auch Grenzwerte für die gesamte Gruppe gibt. Bei den APEO handelt es sich um eine solche Gruppe, für die es zum Beispiel in Pestizidfomulierungen, deren Analytik im Mittelpunkt dieser Arbeit stand, einen Grenzwert für die gesamten NPEO gibt, der sich auf die Massenkonzentration in den Formulierungen bezieht. Daher war eine Abgrenzung der NPEO von den OPEO notwendig, da beide APEO-Typen zur Formulierung von PSM Verwendung finden. Diese gelingt, wie dargelegt werden konnte, mittels HPLC nur anhand der RPLC.

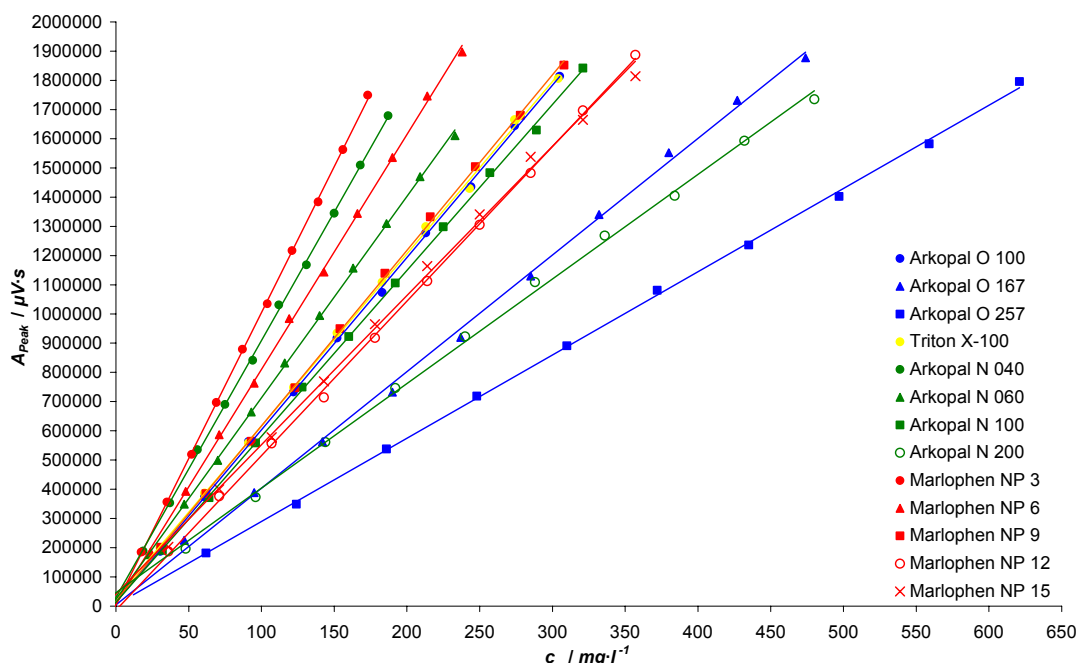


Abbildung 6.77: Abhängigkeit der Empfindlichkeit der UV-Detektion bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ vom APEO-Typ bei einer Kalibration der RPLC-VWD auf Basis von Massenkonzentrationen. Die zur Kalibration verwendeten APEO unterscheiden sich in den mittleren Molmassen, die von $M_n = 347 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Marlophen NP 3, NPEO, $\bar{n} = 2,87$) bis $M_n = 1192 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Arkopal O 257, OPEO, $\bar{n} = 22,4$) reichen. Die Untersuchung der Kalibrierlösungen erfolgte mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20°C , Details s. **Tab. 5.17**).

Aufgrund der Tatsache, dass es sich bei den zur Formulierung von PSM verwendeten APEO aufgrund ihres Herstellungsverfahrens um Homologengemische mit einer mehr oder weniger breiten Ethoxymereverteilung handelt, war eine externe Kalibration mit Standardlösungen auf Basis von Massenkonzentrationen unter Verwendung von UV- oder Fluoreszenzdetektoren nicht möglich, da es je nach mittlerem Ethoxyierungsgrad \bar{n}_{EO} der zur Kalibration verwendeten APEO zu unterschiedlichen Steigungen der Kalibriergeraden kommen muss (s. **Abb. 6.77**). Die unterschiedliche Empfindlichkeit für APEO mit abweichendem mittleren Ethoxyierungsgrad sind durch die in dieser Arbeit verwendeten Detektoren bedingt. Ursache hierfür ist, wie bei der Beschreibung der UV- bzw. Fluoreszenzdetektion von APEO in **Abs. 6.5.2** dargelegt wurde, das stoffmengenabhängige Detektorsignal, da die UV-Absorption bzw. Fluoreszenz der APEO aufgrund ihres chromophores, dem aromatischen Ring, nicht von der Molmasse der Ethoxymere abhängt. Eine Kalibration auf Basis von Stoffmengenkonzentrationen ist aber nur dann möglich, wenn die mittleren Ethoxyierungsgrade beider APEO, sowohl derjenigen in der untersuchten Probe als auch derjenigen zur Kalibration verwendeten, bekannt sind. Aus diesem Grund,

war es notwendig, die aus den Bestimmungen mittels NPLC-FLD ermittelten Daten in die Kalibration der RPLC einzubeziehen.

Bei der Herstellung der Kalibrierlösungen werden die technischen APEO, die aus N unterschiedlichen Ethoxymeren AP(EO)_i bestehen, in Ethanol gelöst. Aus dem Lösemittelevolumen V und der eingewogenen Masse m_{APEO} des technischen Gemisches läßt sich zunächst die Gesamtmassenkonzentration c_{APEO} nach

$$c_{\text{APEO}} = \frac{m_{\text{APEO}}}{V} \quad \left(\text{mit } m_{\text{APEO}} = \sum_{i=1}^N m_i \right) \quad (6.46)$$

berechnen, ohne dass die Massenkonzentration c_i jedes einzelnen Oligomers i bekannt wäre. Für den Fall, dass der Stoffmengenanteil x_i für jedes einzelne AP(EO)_i bzw. das Zahlenmittel der Molmasse M_n des APEO-Gemisches — beides läßt sich mittels NPLC-FLD ermitteln — in der Lösung bekannt ist, kann die Gesamtstoffmengenkonzentration c_{APEO} berechnet werden. Da sich die Gesamtstoffmenge n_{APEO} aller APEO in Lösung aus der Summe der Stoffmengen n_i der einzelnen Oligomere i ergibt, gilt für die Gesamtstoffmengenkonzentration c_{APEO} der Lösung:

$$c_{\text{APEO}} = \frac{n_{\text{APEO}}}{V} \quad \left(\text{mit } n_{\text{APEO}} = \sum_{i=1}^N n_i \right) \quad (6.47)$$

Aus **Gl. 6.46** und **Gl. 6.47** folgt:

$$\begin{aligned} c_{\text{APEO}} &= \frac{\sum_{i=1}^N m_i}{V} \\ &= \frac{\sum_{i=1}^N (M_i \cdot n_i)}{V} \\ &= \frac{\sum_{i=1}^N (M_i \cdot x_i \cdot \sum_{i=1}^N n_i)}{V} \\ &= \frac{n_{\text{APEO}} \cdot \sum_{i=1}^N (M_i \cdot x_i)}{V} \\ &= c_{\text{APEO}} \cdot \sum_{i=1}^N (M_i \cdot x_i) \end{aligned} \quad (6.48)$$

Hieraus folgt durch Einsetzen der **Gl. 6.15** (s. S. 197) in **Gl. 6.48** unmittelbar der Zusammenhang zwischen Gesamtstoffmengenkonzentration, Gesamtmassenkonzentration und Zahlenmittel der Molmasse:

$$c_{\text{APEO}} = \frac{c_{\text{APEO}}}{M_n} \quad (6.49)$$

Da die externe Kalibrierung der Detektoren mit Kalibrierlösungen bekannter Massenkonzentrationen c_{APEO}^{ESTD} durchgeführt wurde, ergibt sich aus der Regressionsanalyse zunächst die lineare Kalibrierfunktion:

$$A_{Peak}^{ESTD} = a_{ESTD} \cdot c_{APEO}^{ESTD} + b_{ESTD} \quad (6.50)$$

Aus **Gl. 6.49** und **Gl. 6.50** läßt sich mit Hilfe der mittels NPLC-FLD ermittelten mittleren Molmasse M_n^{ESTD} des verwendeten APEO-Standards die Kalibrierfunktion für die Stoffmengenkonzentration ermitteln:

$$A_{Peak}^{ESTD} = a_{ESTD} \cdot c_{APEO}^{ESTD} \cdot M_n^{ESTD} + b_{ESTD} \quad (6.51)$$

Die Auswertefunktion, mittels der die Stoffmengenkonzentrationen c_{APEO}^{Probe} der unbekannten Probe aus den bestimmten Peakflächen A_{Peak}^{Probe} ermittelt werden können, lautet dann:

$$c_{APEO}^{Probe} = \frac{A_{Peak}^{Probe} - b_{ESTD}}{a_{ESTD}} \cdot \frac{1}{M_n^{ESTD}} \quad (6.52)$$

Da aber bei den durchgeführten Bestimmungen die APEO-Massenkonzentrationen in den untersuchten Proben von Interesse sind, mussten für die Probe auch die Zahlenmittel der Molmassen M_n^{Probe} der APEO in den Proben mittels NPLC-FLD bestimmt werden. Dann läßt sich wegen $c_{APEO}^{Probe} = c_{APEO}^{Probe} \cdot M_n^{Probe}$ die Massenkonzentration c_{APEO}^{Probe} der APEO in der untersuchten Probe ermitteln gemäß:

$$c_{APEO}^{Probe} = \frac{A_{Peak}^{Probe} - b_{ESTD}}{a_{ESTD}} \cdot \frac{M_n^{Probe}}{M_n^{ESTD}} \quad (6.53)$$

Die Massengehalte c_{APEO}^{Probe} in den untersuchten PSM-Proben, als % (w/w) angegeben, können dann aus den in den Lösungen oder in den Extrakten bestimmten Massenkonzentrationen c_{APEO}^{Probe} der APEO, den eingewogenen Massen m_{Probe} und dem Volumen V_{LM} des Lösungs- bzw. Extraktionsmittels ermittelt werden nach:

$$c_{APEO}^{Probe} = \frac{A_{Peak}^{Probe} - b_{ESTD}}{a_{ESTD}} \cdot \frac{M_n^{Probe}}{M_n^{ESTD}} \cdot m_{Probe}^{-1} \cdot V_{LM} \cdot 100 \% \quad (6.54)$$

Durch Verwendung der mittels NPLC-FLD ermittelten mittleren Molmassen der für die Kalibration verwendeten APEO können aus den Gesamtmassenkonzentrationen c_{APEO} der Kalibrierlösungen die entsprechenden Stoffmengenkonzentrationen bestimmt werden. Die Empfindlichkeit der UV-Detektion (s. **Abb. 6.78**) und der Fluoreszenzdetektion bei der Bestimmung der APEO mittels RPLC auf Basis von Stoffmengenkonzentrationen hängt kaum noch vom verwendeten APEO ab. Die noch zu beobachtenden Abweichungen, die sich aus der Verwendung unterschiedlicher APEO zu Kalibration ergeben, sind dadurch Verursacht, dass es sich zum einen bei den verwendeten APEO um technische Produkte

handelte, die eine unterschiedliche Reinheit aufwiesen (s. **Abs. 6.5.5.1**), und zum anderen die zur Ermittlung der Gesamtstoffmengenkonzentration herangezogenen mittleren Molmassen selber ebenfalls fehlerbehaftet sind, da sie aus experimentellen Daten gewonnen wurden. Die beobachteten Abweichungen hängen nicht mehr vom APEO-Typ oder dem Ethoxylierungsgrad ab, wie es bei einer Kalibration auf Basis der Massenkonzentrationen der Fall ist (vgl. mit **Abb. 6.77**), da es sich bei dem in den Empfindlichkeiten am weitesten auseinander liegenden Paar mit Marlophen NP 6 (NPEO, $M_n = (475 \pm 1) g \cdot mol^{-1}$, $\bar{n} = 5,78 \pm 0,03$) und Arkopal N 060 (NPEO, $M_n = (465 \pm 2) g \cdot mol^{-1}$, $\bar{n} = 5,56 \pm 0,04$) um sehr ähnliche APEO handelt. Insgesamt weicht die Empfindlichkeit der in **Abbildung 6.78** dargestellten Kalibrationen maximal um 16 % ab. Um daher systematische Fehler, die durch eine zu stark fehlerbehaftete Kalibration verursacht wurden, zu minimieren, erfolgte die Kalibration der Detektoren in der Regel mit mindestens zwei unabhängigen Kalibrierstandards (s. a. **Abs. 6.5.5.3**). Eine genauere Fehlerabschätzung zur verwendeten Kalibrierstrategie findet in **Abs. 6.5.5.4** statt.

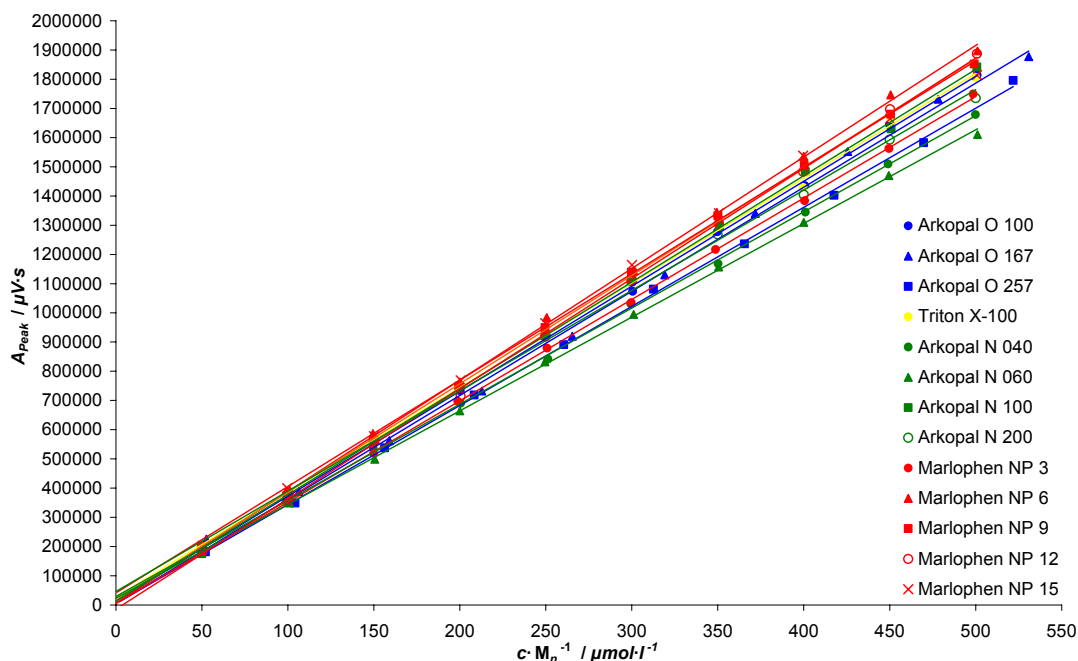


Abbildung 6.78: Kalibration der RPLC-VWD für eine Bestimmung von APEO mittels UV-Detektion bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ mit unterschiedlichen APEO-Standards auf Basis von Stoffmengenkonzentrationen. Die zur Kalibration verwendeten APEO unterscheiden sich in den mittleren Molmassen, die von $M_n = 347 g \cdot mol^{-1}$ (Marlophen NP 3, NPEO, $\bar{n} = 2,87$) bis $M_n = 1192 g \cdot mol^{-1}$ (Arkopal O 257, OPEO, $\bar{n} = 22,4$) reichen. Die Untersuchung der Kalibrierlösungen erfolgte mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $5 \mu m$ Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20°C , Details s. **Tab. 5.17**).

Für das auch als Standard verwendete technische APEO-Gemisch Arkopal O 100 wurde festgestellt, dass es sich um kein reines OPEO-Gemisch handelte, sondern auch einen NPEO-Anteil aufwies. Die für die Kalibrierung jeweils benötigte Gesamtstoffmengenkonzentration c_{APEO} konnte aus den für die OPEO- und NPEO-Fraktion ermittelten Zahlenmitteln der Molmasse ($M_{n,OPEO}$ und $M_{n,NPEO}$), den Peakflächen im RPLC-Chromatogramm ($A_{Peak,OPEO}$ und $A_{Peak,NPEO}$) und der Gesamtmassenkonzentration c_{APEO} ermittelt werden. Wegen

$$x_{OPEO} = \frac{A_{Peak,OPEO}}{(A_{Peak,OPEO} + A_{Peak,NPEO})}, \quad (6.55)$$

$$x_{NPEO} = \frac{A_{Peak,NPEO}}{(A_{Peak,OPEO} + A_{Peak,NPEO})} \quad (6.56)$$

$$\text{und } c_{APEO} = \frac{c_{APEO}}{x_{OPEO} \cdot M_{n,OPEO} + x_{NPEO} \cdot M_{n,NPEO}} \quad (6.57)$$

folgt unmittelbar:

$$c_{APEO} = \frac{c_{APEO} \cdot (A_{Peak,OPEO} + A_{Peak,NPEO})}{A_{Peak,OPEO} \cdot M_{n,OPEO} + A_{Peak,NPEO} \cdot M_{n,NPEO}} \quad (6.58)$$

Die Untersuchungen von Arkopal O 100 ergaben einen Anteil von $(92,4 \pm 0,6) \% (w/w)$ OPEO ($M_n = (620 \pm 1) g \cdot mol^{-1}$, $\bar{n}_{EO} = 9,83 \pm 0,03$). Der Anteil an NPEO ($M_n = (541,1 \pm 0,7) g \cdot mol^{-1}$, $\bar{n}_{EO} = 7,89 \pm 0,02$) betrug demnach $(7,6 \pm 0,6) \% (w/w)$. Wurde Arkopal O 100 zu Kalibration oder anderen Zwecken verwendet, wurde der Anteil an NPEO in diesem OPEO-Tensid entsprechend berücksichtigt.

6.5.5.3 Durchführung der Kalibrationen und Verfahrenskennndaten

Die Kalibrierung der RPLC erfolgte über die ermittelten Peakfläche der Chromatogramme mit externen Standards in Lösung. Die Kalibrierung sowie die Ermittlung der Verfahrenskennndaten erfolgte in Anlehnung an DIN 38402-51 [100] und DIN 32645 [101]. Es wurde für jede Messreihe mit mindestens zwei unabhängigen Standards jeweils in zehn verschiedenen, äquidistanten Konzentrationsstufen kalibriert. Falls entsprechende Standards vorhanden waren, wurden jeweils Standards verwendet, die der mittleren Molmasse der in den Proben ermittelten entsprachen und die vom selben APEO-Typ (NPEO bzw. OPEO) waren. Je nach Typ und mittlerem Ethoxylierungsgrad der APEO in den Proben wurden in der Regel die Paare Arkopal N 040 und Marlophen NP 3, Arkopal N 100 und Marlophen NP 9 sowie Arkopal O 100 und Triton X-100 verwendet. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte als Mittelwert aus den mit den einzelnen Kalibrierungen bestimmten Gehalten.

In der Regel wurden Kalibrationen in den Konzentrationsbereichen von $10 \mu mol \cdot l^{-1}$ bis $200 \mu mol \cdot l^{-1}$, $15 \mu mol \cdot l^{-1}$ bis $150 \mu mol \cdot l^{-1}$, $30 \mu mol \cdot l^{-1}$ bis $300 \mu mol \cdot l^{-1}$ und

$50 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ bis $500 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ durchgeführt. Proben mit höheren APEO-Gehalten wurden vor der Analyse entsprechend verdünnt.

Wenn nichts anderes angegeben ist, sind alle Kenndaten für $N_{Kal.} = 5$ Wiederholmessungen an $N_{ESTD} = 10$ Kalibrierproben jedes Standards und $N_{Probe} = 5$ Wiederholmessungen an jeder Probe, d. h. an jedem Probenextrakt oder jeder hergestellten Lösung, ermittelt. Es wurde eine Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art von 1 % ($\alpha = 0,01$) und den Fehler 2. Art von 1 % ($\beta = 0,01$) sowie eine relative Ergebnisunsicherheit von 33,33 % ($k = 3$) zugrunde gelegt.

Die verwendeten HPLC-Methoden RPLC 1 und RPLC 2 verfügten für alle untersuchten PSM unter Verwendung der unterschiedlichen Detektoren über eine ausreichende Nachweisstärke, um die APEO sicher nachweisen zu können. Die Methode wurde im Hinblick auf den geltenden Grenzwert von 0,1 % (w/w) für NPEO in PSM-Fomulierungen überprüft, um sicherzustellen, dass ein Nachweis und eine Bestimmung in diesem Konzentrationsbereich mit ausreichender Sicherheit gelingt. Dazu wurde der weniger empfindliche UV-Detektor bei $\lambda = 277 \text{ nm}$, also der unempfindlicheren der beiden verwendeten Wellenlängen, in dem Bereich des 10-fachen ($3,5 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) bis 100-fachen ($35 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) der absoluten Nachweisgrenze (bezogen auf $50 \mu\text{l}$ Injektionsvolumen) des Detektors mit Lösungen von Arkopal N 100 kalibriert (s. **Abb. 6.79**) und aus den Kalibrierdaten die Verfahrenskenndaten ermittelt. Diese Untersuchungen wurden exemplarisch mittels der RPLC 1-Methode unter Verwendung des Agilent-HPLC-Systems durchgeführt und sind auf die anderen HPLC-Systeme und RPLC-Methoden übertragbar.

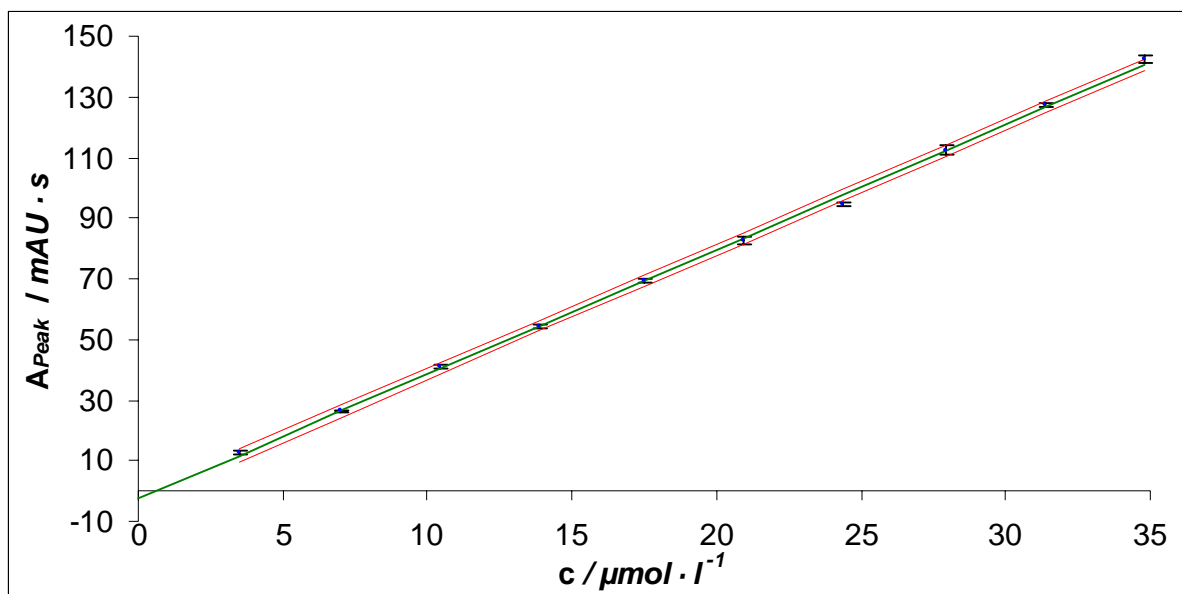


Abbildung 6.79: Kalibration der RPLC-VWD für eine Bestimmung von APEO im Bereich des 10-fachen bis 100-fachen der absoluten Nachweisgrenze der UV-Detektion bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ mit Kalibrierlösungen von Arkopal N100. Die Untersuchung der Kalibrierlösungen erfolgte mittels RPLC 1 (Agilent-HPLC, $5 \mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), $1,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20°C , Details s. **Tab. 5.17**).

Aus den Kalibrierdaten wurden mittels der Kalibriergeradenmethode nach DIN 32645 [101] die analytischen Grenzen ermittelt. Es wurde eine Nachweisgrenze von $0,16 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ($0,25 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, 8 ng absolut), eine Erfassungsgrenze von $0,49 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ($0,76 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, 25 ng absolut) und eine Bestimmungsgrenze von $0,97 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ($1,51 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, 49 ng absolut) ermittelt. Es ergab sich eine relative Verfahrensstandardabweichung von $1,8\%$, die in der Größenordnung des bei den Kalibrationen üblicherweise erreichten Bereiches von $1,0\%$ bis $5,0\%$ lag.

Sollte eine APEO-Bestimmung in den PSM im Hinblick auf den Grenzwert von $0,1\%$ (w/w) für NPEO erfolgen, so folgt aus der ermittelten Bestimmungsgrenze und der Zielsetzung, mindestens ein Zehntel des Gehaltes des Grenzwertes noch sicher nachweisen zu können, das mindestens mit einem Massen-zu-Volumen-Verhältnis von $10^{-3} \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ extrahiert werden mußte bzw. Lösungen mit den entsprechenden Konzentrationen der Proben verwendet werden mußten. D. h. für eine Extraktion von $0,1 \text{ mg}$ Probe mit 100 ml Extraktionsmittel war ohne weitere Aufkonzentration die Quantifizierung der APEO im Bereich des Grenzwertes noch möglich. Bei den Untersuchungen wurden in der Regel um den Faktor 100 bis 1000 größere Probenmengen extrahiert.

6.5.5.4 Überprüfung auf Richtigkeit

Neben der Überprüfung der Methoden mittels geeigneter Wiederfindungsexperimente, entweder unter Verwendung von synthetischen Proben oder durch gezielte Auftockung von Proben, die auch die Extraktionsmethoden einbeziehen und daher bei der Beschreibung dieser Verfahren bereits dargestellt wurden, wurde die entwickelte und angewendete Kalibrierstrategie einer Überprüfung auf ihre Richtigkeit mittels Lösungen geeigneter Standards unterzogen. Dabei sollte zunächst abgeschätzt werden, wie deutlich einerseits die Ergebnisse einer Kalibrierung auf Basis von Massenkonzentrationen von denjenigen auf Basis von Stoffmengenkonzentrationen abweichen und welchen Einfluss die Verwendung unterschiedlicher Detektionsmethoden auf die Richtigkeit hat. Diese Überprüfung wurde mit Hilfe der RPLC 1-Methode unter Verwendung der Shimadzu-HPLC 1 durchgeführt, die mit einem Standard durchgeführt wurde, dessen Ethoxylierungsgrad im mittleren Bereich der verwendeten APEO lag.

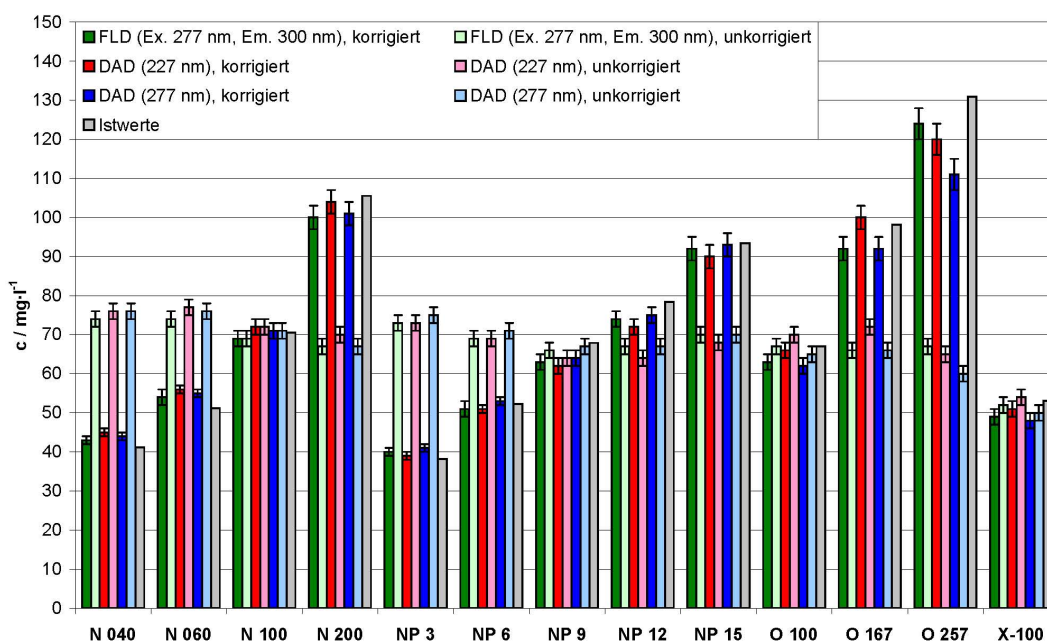


Abbildung 6.80: Überprüfung der Kalibrierstrategie durch Vergleich der mittels RPLC-DAD/FLD ermittelten Massenkonzentrationen mit den Istwerten von Lösungen verschiedener technischer APEO ohne Berücksichtigung (unkorrigiert) und mit Berücksichtigung (korrigiert) der Unterschiede in den mittleren Molmassen der untersuchten APEO und des verwendeten Kalibrierstandards Arkopal N 100. Die Kalibration ohne Einbeziehen der mittels NPLC-FLD bestimmten mittleren Molmassen basiert auf Massenkonzentrationen, die andere wurde auf Basis von Stoffmengenkonzentrationen durchgeführt (Shimadzu-HPLC 1, 5 μm Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), 1,0 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 20 °C, Details s. **Tab. 5.17**).

Dazu wurde der DAD und der Fluoreszenzdetektor mit Lösungen von Arkopal N 100

($M_n = (641 \pm 7) \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) in einem Konzentrationsbereich von $15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ($25 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) bis $150 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ($250 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) kalibriert und die Konzentrationen von Referenzlösungen mit bekanntem Gehalt bestimmt. Dabei wurde einmal eine Kalibration auf Basis der Massenkonzentrationen (ohne Berücksichtigung der unterschiedlichen mittleren Molmassen) und einmal auf Basis der Stoffmengenkonzentrationen (mit Berücksichtigung der unterschiedlichen mittleren Molmassen) durchgeführt (s. **Abb. 6.80**).

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass eine Kalibration auf Basis von Massenkonzentrationen nur dann zu richtigen Ergebnissen führt, wenn der Kalibrierstandard annähernd dieselbe mittlere Molmasse aufweist wie die APEO der Probe. Dies war nur für die Bestimmung von Marlophen NP 9, Arkopal O 100 und Triton X-100 bei einer Kalibration mit Arkopal N 100 der Fall. In diesen Fällen läßt sich kein signifikanter Unterschied zu einer auf Stoffmengenkonzentrationen basierenden Kalibration feststellen. In allen anderen Fällen weichen die ohne Berücksichtigung der mittleren Molmassen bestimmten Konzentrationen deutlich von den Istwerten ab. Sie werden naheliegenderweise um so größer, je weiter die Molmassen des Kalibrierstandards von den Molmassen des Analyten entfernt sind und können annähernd 50 % betragen. Wurden die mittleren Molmassen bei der Kalibration und Bestimmung der APEO-Gehalte einbezogen, ließ sich mit Ausnahme von O 257 kein signifikanter Einfluß der mittleren Molmasse auf die Richtigkeit der Ergebnisse feststellen. In der Regel lagen die Abweichungen der bestimmten Konzentrationen von den Istwerten unterhalb von 5 %.

Ein signifikanter Einfluss auf die Richtigkeit der Ergebnisse durch den verwendeten Detektor ließ sich in matrixfreien Lösungen erwartungsgemäß nicht feststellen.

Zur Überprüfung der Richtigkeit und zur Abschätzung der Fehler wurde zusätzlich mit Hilfe des in **Abb. 6.78** dargestellten Satzes an Kalibrierproben aller APEO-Standards der Fluoreszenzdetektor kalibriert. Dabei wurden aus den Peakflächen aller APEO und aller Kalibrierniveaus mittlere Wiederfindungsraten für jeden APEO-Standard für die Kalibrationen mit Marlophen NP 3, Arkopal N 100, Arkopal N 200 und Arkopal O 100 bestimmt (s. **Abb. 6.81**). Die Auswahl dieser Kalibrierstandards erfolgte, um alle möglichen Effekte auf die Kalibrierung zu erfassen, da diese APEO sich entweder deutlich in der Kettenlänge der Polyoxyethylengruppe unterschieden, von einem anderen Hersteller oder einer anderen Produktgruppe stammten oder verschiedene Alkylsubstituenten am aromatischen Ring trugen.

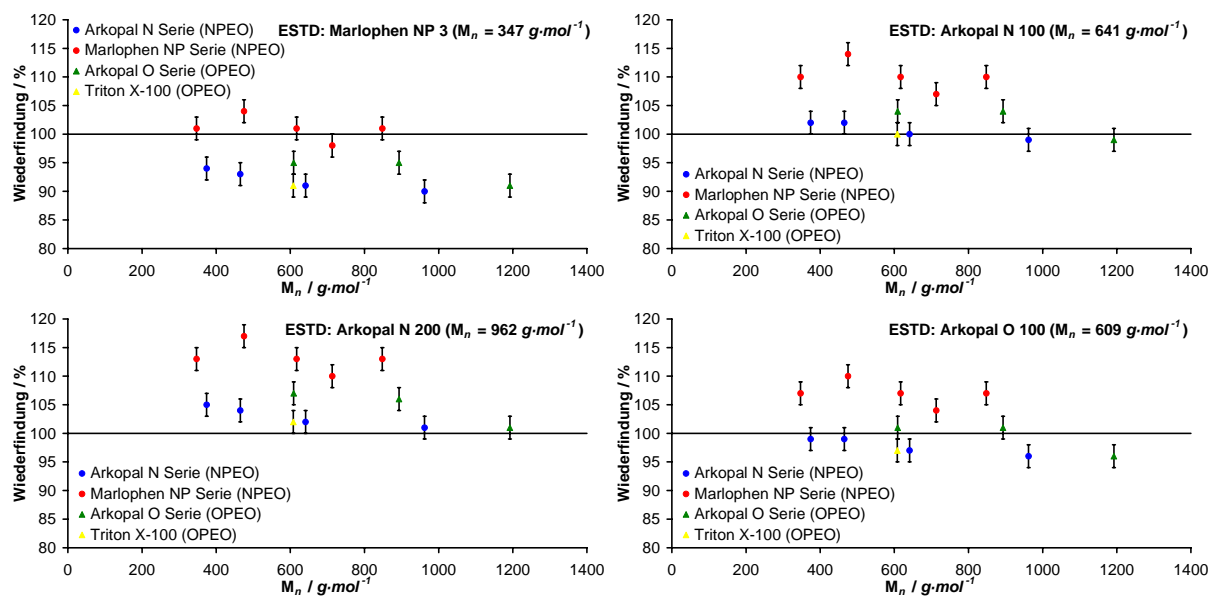


Abbildung 6.81: Wiederfindungsraten von APEO in Standardlösungen bei der Bestimmung mittels RPLC-FLD bei Verwendung unterschiedlicher APEO-Kalibrierstandards (RPLC 1, Shimadzu-HPLC, FLD ($\lambda_{ex} = 277\text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300\text{ nm}$), $5\text{ }\mu\text{m}$ Eurospher 100 C18 (125 mm x 4 mm I.D.), Acetonitril / Wasser 78:22 (v/v), $1,0\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $20\text{ }^\circ\text{C}$, Details s. **Tab. 5.17**).

Bei der Auswertung aller Daten trat eine maximale Abweichung von 17% bei der Bestimmung von Marlophen NP 6 unter Verwendung von Arkopal N 200 für die Kalibration auf. Insgesamt waren die Wiederfindungsraten der APEO in den Standardlösungen sehr gut, da die mittlere Abweichung aller Proben lediglich 5,4% betrug. Die mittlere Abweichung für jede Kalibrierreihe war $< 7,5\%$. Dabei kam es nur bei der Verwendung von Arkopal N 200 zu systematischen Abweichungen, da mit diesem Kalibrierstandard in allen Fällen Überbefunde auftraten. Ursache war vermutlich die fehlerbehaftete Bestimmung des mittleren Ethoxyierungsgrades, da dieser aus den MALDI-ToF-MS-Daten abgeleitet wurde. Wie sich zeigte, hing die Güte der Kalibrationen eher von dem verwendeten APEO-Produkt ab, also von dem Hersteller, als vom mittleren Ethoxyierungsgrad. Als Ursachen hierfür sind die unterschiedlichen Reinheiten der APEO-Tenside zu nennen (vgl. a. mit **Abs. 6.5.5.1**). Um die Richtigkeit der Ergebnisse zu erhöhen und systematische Fehler zu minimieren fand daher die Kalibration jeweils mit mindestens zwei unabhängigen, parallel durchgeführten Kalibrierreihen statt. Dazu wurden APEO von unterschiedlichen Herstellern mit annähernd selben \bar{n}_{EO} zur Kalibration verwendet. Es wurden in der Regel die Paare Arkopal N 040 und Marlophen NP 3, Arkopal N 100 und Marlophen NP 9 sowie Arkopal O 100 und Triton X-100 verwendet. Die Ergebnisse wurden dann als Mittelwerte aus beiden Bestimmungen angegeben.

Resümierend lässt sich festhalten, dass die oben beschriebene Kalibrierstrategie, die die

mit Hilfe der NPLC-FLD bestimmten mittleren Molmassen der APEO sowohl in den Proben als auch in den Kalibrierlösungen berücksichtigt, zu hinreichend genauen Ergebnissen führt ($\leq 7,5\%$ Abweichung im Mittel). Dies gilt um so mehr, als dass die Kalibration mit technischen APEO-Gemischen durchgeführt wurde und nicht auf Reinstsubstanzen zurückgriff. Wie ebenfalls gezeigt werden konnte, führt eine Kalibration, die nicht auf Stoffmengenkonzentrationen basiert, dann zu unrichtigen Ergebnissen, wenn der zur Kalibration verwendete Standard in seinem Ethoxylierungsgrad nicht dem APEO in der analysierten Probe entspricht. Diese Fehler können annähernd 50 % betragen.

6.6 Überblick und Bewertung der Ergebnisse

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die Kombination der RPLC mit der NPLC unter Einsatz geeigneter Extraktionsmethoden zur sicheren Identifikation von APEO in PSM und anderen Zubereitungen geeignet ist. Es wurden in acht von zehn untersuchten Pflanzenschutzmitteln (s. **Abs. 5.1.1**) APEO in Gehalten von $< 0,5\%$ (w/w) bis $> 10\%$ (w/w) nachgewiesen, die mit APEO mit mittleren Ethoxylierungsgrad zwischen $\bar{n}_{EO} = 3,5$ und $\bar{n}_{EO} = 9,5$ formuliert waren (s. **Tab. 6.13** und **Tab. 6.14**). In den ebenfalls untersuchten synthetischen Ölen (s. **Abs. 5.1.2**) sowie in den verschiedenen Reinigungsmitteln (s. **Abs. 5.1.3**), Spülmitteln (s. **Abs. 5.1.3**) und Waschmittelpulvern (s. **Abs. 5.1.4**) wurden keine APEO nachgewiesen.

Es zeigte sich, dass die unterschiedlichen Methoden nicht immer zu denselben Ergebnissen kommen (s. **Tab. 6.13** und **Tab. 6.14**). Das gilt sowohl für die beiden RPLC-Methoden RPLC 1 und RPLC 2 als auch für die unterschiedlichen Extraktionsmethoden. Die Unterschiede, die teilweise über 50 % betrugen, hingen vor allem von den unterschiedlichen Matrices ab, die sehr starken Einfluss ausüben können. Diese ließen sich zwar durch Verbesserung der Selektivität der Methoden deutlich minimieren (s. **Abs. 6.5.3**), aber nicht immer vollständig eliminieren.

Die Untersuchung der emulgierbaren Konzentrate, die direkt in Lösung durchgeführt wurden, waren teilweise wegen der in **Abs. 6.5.3** beschriebenen Matrixeinflüsse für die Methode RPLC 1 deutlich fehlerbehaftet. Aber auch für die Methode RPLC 2 führten Matrixeinflüsse teilweise zu Überbefunden. PSM 3 ist ein gutes Beispiel dafür, dass es ohne geeignete Probenvorbereitung zu hohen Überbefunden kommen kann. Die Ergebnisse der Analysen direkt in Lösung der PSM wurden aber zu Vergleichszwecken herangezogen.

Tabelle 6.13: Ergebnisüberblick der PSM-Analysen für die emulgierbaren Konzentrate.

	in Lösung ^a ($N = 3$)		SPE ($N = 5$)	Flüssig-Flüssig ($N = 5$)	in Lösung ($N = 3$)
	RPLC 1	RPLC 2	RPLC 1	RPLC 1	LC-LC 2
	Agilent-HPLC (VWD 277 nm)	Shimadzu-HPLC 1 (FLD)	Shimadzu-HPLC 2 (UVD 277 nm)	Agilent-HPLC (VWD 227 nm)	Agilent-HPLC (VWD 277 nm)
APEO-Gehalt / % (w/w)					
	NPEO ($M_n = (635 \pm 2) g \cdot mol^{-1}$, $n_{EO} = 9,41 \pm 0,04$)				
PSM 3 ^b	19,1 \pm 0,8	16,6 \pm 0,4	13,1 \pm 0,1	8,9 \pm 0,3	14,4 \pm 0,4 ^c
	(weiterer Beistoff: Dodecanoethoxylat, Wirkstoff: Demethon-S-methylsulfon)				
	NPEO ($M_n = (407 \pm 7) g \cdot mol^{-1}$, $n_{EO} = 4,2 \pm 0,2$)				
PSM 4	0,46 \pm 0,02	0,57 \pm 0,02	0,60 \pm 0,01	0,74 \pm 0,07	0,31 \pm 0,03
	(Wirkstoff: Metolachlor)				
	NPEO ($M_n = (397 \pm 3) g \cdot mol^{-1}$, $n_{EO} = 4,01 \pm 0,06$)				
PSM 5	0,33 \pm 0,01	0,47 \pm 0,01	0,33 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02	0,271 \pm 0,002
	(Wirkstoff: Metolachlor)				
	NPEO ($M_n = (377,7 \pm 0,9) g \cdot mol^{-1}$, $n_{EO} = 3,57 \pm 0,02$)				
PSM 7	9,9 \pm 0,1	10,6 \pm 0,2	9,3 \pm 0,6	7,9 \pm 0,1	n. b. ^d
	(Wirkstoffe: Desmedipham, Ethofumesat, Phenmedipham)				
	NPEO ($M_n = (626 \pm 2) g \cdot mol^{-1}$, $n_{EO} = 9,21 \pm 0,05$)				
PSM 8	5,33 \pm 0,09	5,33 \pm 0,08	5,04 \pm 0,04	5,5 \pm 0,1	n. b.
	(Wirkstoff: Methamidophos)				

^aAngabe nur zu Vergleichszwecken.^bZusätzlich wurde PSM 3 auch mittels RPLC 1 unter Verwendung der Agilent-HPLC (VWD 277 nm) nach Wickbold-Extraktion untersucht. Es wurden $(13,2 \pm 0,6) \% (w/w)$ NPEO nachgewiesen.^cPSM 3 wurde abweichend mittels LC-LC 1 analysiert.^dn. b. (nicht bestimmt)

Trotz der Verwendung von Korrekturfaktoren liefert die Flüssig-Flüssig-Extraktionsmethode die unsichersten Ergebnisse aufgrund der teilweise stärker variierenden Wiederfindungen, die durch die unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der APEO mit abweichendem mittleren Ethoxylierungsgrad hervorgerufen werden. Mit Hilfe von Wiederfindungsexperimenten konnte gezeigt werden, dass es in Abhängigkeit von der Matrix teilweise zu stärker fehlerbehafteten Ergebnissen kommen kann. Bei den synthetischen PSM-Proben war der Bias beispielsweise in fast der Hälfte der Fälle $> 10 \%$. Bei anderen Matrices konnte die Abweichung noch deutlich höher sein. Mit Ausnahme der Proben PSM 5 ($\leq 15 \%$) und PSM 8 ($\leq 8 \%$) gab es daher die deutlichsten Abweichungen der Messergebnisse im Vergleich zu den anderen Methoden.

Tabelle 6.14: Ergebnisüberblick der PSM-Analysen für die wasserdispergierbaren Granulate (WG) und die Suspensionskonzentrate (SC).

	Wickbold- Extraktion	Fest-Flüssig-Extraktion		
		Dispersionsmethode	Schüttelmethode	
	(<i>N</i> = 1)	(<i>N</i> = 3)	(<i>N</i> = 3)	
	RPLC 1	RPLC 1	RPLC 2	LC-LC 1
	Agilent-HPLC (VWD 277 nm)	Shimadzu-HPLC 1 (FLD)	Shimadzu-HPLC 1 (FLD)	Agilent-HPLC (VWD 277 nm)
APEO-Gehalt / % (<i>w/w</i>)				
PSM 1 (WG)	keine APEO nachgewiesen ^a (Wirkstoff: Metsulfuron-methyl)			
PSM 2 (WG)	(0,09 ± 0,01) ^b	OPEO (<i>M_n</i> = (589 ± 2) <i>g · mol</i> ^{−1} , <i>n_{EO}</i> = 8,7 ± 0,1)		
		0,34 ± 0,02	0,377 ± 0,008	n. b. ^c
(Wirkstoff: Metsulfuron-methyl)				
PSM 6 (SC)	0,38 ± 0,01	NPEO (<i>M_n</i> = (614 ± 7) <i>g · mol</i> ^{−1} , <i>n_{EO}</i> = 9,0 ± 0,2)		
		n. b.	0,48 ± 0,01	0,42 ± 0,01
(Wirkstoff: Isoproturon)				
PSM 9 (WG)	0,315 ± 0,005	OPEO (<i>M_n</i> = (593 ± 3) <i>g · mol</i> ^{−1} , <i>n_{EO}</i> = 8,78 ± 0,07), Metsulfuron-methyl		
		0,340 ± 0,001	0,358 ± 0,008	n. b.
(Wirkstoff: Metsulfuron-methyl)				
PSM 10 (SC)	keine APEO nachgewiesen ^d (Wirkstoff: Metamitron)			

^a $< 0,002\%$ (w/w) (bezogen auf NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,5$)

^b Bleibt unberücksichtigt.

^c n. b. (nicht bestimmt)

^d $< 0,008\%$ (w/w) (bezogen auf NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,5$)

Auch bei der SPE kam es teilweise noch zu matrixbedingten Störungen, die aber mit Ausnahme von PSM 4 deutlich geringer waren als für die Flüssig-Flüssig-Extraktion. Für PSM 4 wurde nach SPE mittels RPLC 1 fast der doppelte Gehalt ermittelt wie mit Hilfe der LC-LC 2.

Durch die C18-C8-Kopplung konnte im Vergleich zur eindimensionalen RPLC eine deutlich verbesserte Trennleistung und damit verbundene höhere Selektivität für die APEO erreicht werden. Dies führte somit zu deutlich verbesserten Ergebnisse bei der Bestimmung von NPEO in PSM. Die Matrixeinflüsse aufgrund von Koelution ließen sich durch die Kopplung dieser beiden stationären Phasen nahezu vollständig eliminieren, wie anhand der Ergebnisse sowohl der Kreuzvalidierung als auch der Aufstockungsexperimente

gezeigt werden konnte.

Für die Untersuchung der wasserdispergierbaren Granulate und der Suspensionskonzentrate waren die Abweichungen zwischen den einzelnen Methoden deutlich geringer. Sie betrugen maximal 20 %. Dabei führte die Wickbold-Methode zu den geringsten Befunden. Wegen des großen präparativen Aufwandes wurde allerdings für jede Probe jeweils nur eine Extraktion durchgeführt, so dass keine Absicherung der Ergebnisse erfolgen konnte. Die Fest-Flüssig-Extraktion, sowohl die Schüttelmethode als auch die Dispersionsmethode, erwies sich als effizienter und praktikabler, besonders im Hinblick auf ihre Tauglichkeit für die Routineanalytik. Dabei zeigten sich auch beim Suspensionskonzentrat PSM 6 die Vorteile einer Analyse mittels LC-LC.

Aus den in dieser Arbeit dargestellten Befunden ergibt sich die Notwendigkeit eines umfassenden PSM-Screenings auf APEO, da trotz des EU-Grenzwertes von 0,1 % (w/w) für NPEO in Pestizid- und Biozidformulierungen in sechs von zehn Proben NPEO in Gehalten oberhalb des Grenzwertes nachgewiesen wurden. In zwei PSM-Proben wurden die als nicht weniger kritisch zu bewertenden OPEO nachgewiesen.

Dabei variierten sowohl die Gehalte als auch die mittleren Ethoxylierungsgrade der nachgewiesenen APEO aufgrund des Formulierungstyps und des Wirkstoffes deutlich.

Von den drei untersuchten wasserdispergierbaren Granulaten, die den Wirkstoff Metsulfuron-methyl enthielten, waren zwei mit OPEO in sehr ähnlichen Konzentrationen um 0,35 % (w/w) und mit sehr ähnlichen mittleren Ethoxylierungsgraden ($\bar{n}_{EO} \approx 8,7$) formuliert. In dem anderen Granulat wurden keine APEO nachgewiesen. Sulfonylharnstoffherbizide mit diesem Wirkstoff werden üblicherweise als wasserdispergierbare oder wasserlösliche Formulierungen auf dem Markt angeboten, in Deutschland unter dem Handelsnamen GROPPER von der DuPont de Nemours (Deutschland) GmbH.

Von den beiden Suspensionskonzentraten wurde nur in der Isoproturonformulierung NPEO nachgewiesen, die mit 0,42 % (v/v) NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,0$ formuliert war. Von diesem Harnstoffderivat sind in Deutschland z. Z. mehrere Suspensionskonzentrate als Herbizide auf dem Markt.

In allen emulgierbaren Konzentraten wurden NPEO in sehr unterschiedlichen Konzentrationen und Ethoxylierungsgraden gefunden. Dabei ähnelten sich die beiden Herbizide, die Metolachlor als Wirkstoff enthielten. Sie waren mit etwa 0,3 % (v/v) NPEO formuliert, die mittlere Ethoxylierungsgrade von 4,0 bis 4,2 aufwiesen. Herbizide, die dieses Acetanilid enthalten, sind in Deutschland nicht mehr zugelassen. Die anderen drei emulgierbaren Konzentrate enthielten ebenfalls NPEO, aber in deutlich höheren Gehalten. PSM 7, bei dem es sich um ein Kombinationsprodukt aus Desmedipham, Ethofumesat und Phenmedipham handelte, war mit 9,3 % (v/v) NPEO (laut Bestimmung nach SPE) formuliert. Der mittlere Ethoxylierungsgrad betrug 3,57. Es sind in Deutschland zur Zeit mit dieser

Wirkstoffkombination zwei Herbizide zugelassen, Agro Pro OF von der Agro Trade GmbH und Betanal Expert von der Bayer CropScience Deutschland GmbH. Bei dem emulgierbaren Konzentrat, das neben 13,1 % (v/v) NPEO mit $\bar{n}_{EO} = 9,41$ (gemäß Bestimmung nach SPE) auch Dodecanoethoxylat als Formulierungshilfsstoff enthielt, handelte es sich um ein Insektizid mit dem Wirkstoff Demethon-S-methylsulfon. Zur Zeit gibt es auf dem deutschen Markt keine zugelassenen Präparate auf Basis dieses organischen Phosphorsäureesters. Das Insektizid PSM 8, das den organischen Phosphorsäureester Methamidophos enthielt, war mit 5,04 % (v/v) NPEO (laut Bestimmung nach SPE) formuliert. Der mittlere Ethoxylierungsgrad war dem des anderen Insektizids mit $\bar{n}_{EO} = 9,42$ ähnlich. Methamidophospräparate sind derzeit in Deutschland ebenfalls nicht zugelassen.

Um eine Bestandsaufnahme machen zu können, wie stark die zur Zeit noch durch PSM verursachte APEO-Belastung der Umwelt ist, wäre ein flächendeckendes Screening von PSM-Produkten wünschenswert, da diese Untersuchungen gezeigt habe, dass PSM noch eine relevante Emissionsquelle von APEO darstellen.

Kapitel 7

Zusammenfassung

Unter den anthropogenen Stoffe, die durch den menschlichen Gebrauch in die Umwelt gelangen, nehmen Tenside, die sowohl in industriellen Prozessen als auch in Haushalten Verwendung finden, mit einem für das Jahr 2010 erwarteten weltweiten Gesamtmarkt von 14 Millionen Tonnen eine dominante Stellung ein. Dabei können sie nicht nur durch einen unsachgemäßen Gebrauch in die Umwelt gelangen sondern auch durch eine sachgemäße Anwendung, wie z. B. als Hilfsstoffe in Pflanzenschutzmitteln.

Bei den Alkylphenoethoxylaten (APEO) handelt es um solche Verbindungen, die aufgrund ihrer amphiphilen Molekülstruktur grenzflächenaktive Eigenschaften aufweisen und zur wirtschaftlich sehr bedeutenden Gruppe der nichtionischen Tenside gehören. Sie weisen in der Anwendung als Reinigungsmittel, Emulgatoren, Dispergiermittel, Lösungsmittel oder Benetzungsmittel ein breites Spektrum auf. Sie werden z. B. in Wasch-, Reinigungs- und Desinfektionsmitteln, als Textil- und Lederhilfsmittel, in der Kunststoffindustrie, bei der Farben- und Lackherstellung, als Hilfsmittel für die Zellstoff- und Papierindustrie, als Additive von Schmierstoffen und Ölen, in Bauchemikalien und als Hilfsmittel in Agrochemikalien verwendet.

In der Gruppe der Hilfsmittel zur Formulierung von Pflanzenschutzmitteln, die in der Regel in Form von wasserbasierenden Spritzmitteln ausgebracht werden, nehmen gerade nichtionische Tenside als Emulgatoren, Suspensionsmittel und Netzmittel eine dominante Stellung ein. Die Anwendung von Nonylphenoethoxylat (NPEO), dem neben Octylphenoethoxylat (OPEO) kommerziell wichtigsten Vertreter der Alkylphenoethoxylate, in solchen Formulierungen und auch in anderen Produkten, zu denen z. B. Wasch und Reinigungsmittel zählen, ist in die Kritik geraten, da NPEO biologisch nicht immer vollständig abgebaut werden und ihre Abbauprodukte, zu denen beispielsweise die Nonylphenole, Nonylphenolmono- und diethoxylate, Nonylphenoethoxycarboxylate und Carboxynonylphenoethoxycarboxylate gehören, teilweise persistent sind, eine hohe Neigung zur Bioak-

kumulation aufweisen und als Xenoöstrogene wirksam sind. Aus diesem Grund gilt seit 2003 gemäß EU-Richtlinie ein Grenzwert von 0,1 % (w/w) für NPEO in Pestizid- und Biozidformulierungen sowie anderen häuslichen, gewerblichen und industriellen Zubereitungen.

Daraus warf sich die Frage auf nach analytischen Methoden, die zur Bestimmung von APEO in solchen Formulierungen geeignet sind, da der überwiegende Teil der bisher veröffentlichten Untersuchungen, die sich mit der Analytik von APEO befassten, sich auf den Nachweis und die Bestimmung von APEO in Umweltproben beschränkte.

Im Gegensatz zu solchen Untersuchungen, bei denen meistens nachweisstarke analytische Verfahren gefragt sind, stellten die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen von Pflanzenschutzmitteln andere Anforderungen an die analytischen Methoden. Aufgrund unterschiedlicher Formulierungstypen, wie es etwa wasserdispergierbare Granulate, emulgierbare Konzentrate oder Suspensionskonzentrate sind, konnten die Ethoxymerenverteilung der als Formulierungshilfsmittel verwendeten APEO als auch die Beschaffenheit der Matrix stark variieren. Daher stellte die Analytik von APEO in Pflanzenschutzmitteln große Herausforderungen an die Selektivität der verwendeten Methoden.

Wegen der geringen Flüchtigkeit der APEO mit höherem Ethoxylierungsgrad, die hauptsächlich zur Formulierung von PSM Verwendung finden, war unter den chromatographische Trennverfahren die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) die Methode der Wahl. Daher wurden Methoden entwickelt, die unter Verwendung der HPLC eine Bestimmung von NPEO und OPEO in Pflanzenschutzmitteln und auch anderen Matrices ermöglichten. Für die unterschiedlichen Formulierungstypen und in Abhängigkeit von den weiteren Beistoffen, wie etwa verschiedenen Lösemitteln, Tensiden oder Ölen, wurden geeignete Methoden zur Probenvorbereitung etabliert, die eine Extraktion der APEO oder ein Entfernen von Matrixbestandteilen möglich machten.

Grundlage des Verfahrens war die Kombination der Umkehrphasen-Flüssigkeitschromatographie (RPLC) an einer C18-Phase mit der Normalphasen-Flüssigkeitschromatographie (NPLC) an einer Aminopropylsilicaphase unter Verwendung von UV-, Diodenarray- bzw. Fluoreszenzdetektoren, die eine Identifizierung, Charakterisierung und Quantifizierung der APEO in Pestizidformulierungen und anderen Matrices sicherstellte. Mit Hilfe der RPLC gelang eine Auftrennung der APEO in ihre OPEO- und NPEO-Fraktionen. Dafür wurden zwei unterschiedliche RPLC-Methoden unter Verwendung einer C18-Phase entwickelt, die in Abhängigkeit von der Art der Probe zum Einsatz kamen. Die isokratische Elution erfolgte entweder mit Acetonitril/Wasser oder mit Methanol/Wasser. Zusätzlich wurde eine LC-LC-Methode entwickelt. Mit Hilfe der Online-Kopplung einer C18-Säule mit einer C8-Säule ließ sich im Vergleich zur eindimensionalen RPLC eine deutlich verbesserte Trennleistung und eine damit verbundene höhere Selektivität für die APEO erreichen.

Nach einer Fraktionierung mittels RPLC in NPEO und OPEO ermöglichte dann die NPLC mittels Gradientenelution und Fluoreszenzdetektion die Auftrennung der APEO-Fraktionen in ihre einzelnen Ethoxymere. Für die Identifizierung der einzelnen Ethoxymere wurden zuvor mittels Adsorptionschromatographie isolierte NPEO- und OPEO-Ethoxymere verwendet. Durch die Ermittlung der Ethoxymerenverteilung mittels NPLC-FLD wurde die Bestimmung von mittleren Molmassen und mittleren Ethoxylierungsgraden erreicht.

Eine universelle Kalibrierstrategie, bei der sowohl der APEO-Typ, also OPEO oder NPEO, als auch die Ethoxymerenverteilung im verwendeten Standard und in der Probe berücksichtigt wurden, diente zur Quantifizierung der APEO in den Pflanzenschutzmitteln und anderen Proben. Dabei fand die Kalibration der RPLC-UVD bzw. RPLC-FLD auf Basis von mittleren Stoffmengenkonzentrationen der APEO mit externen Kalibrierlösungen statt, indem die Zahlenmittel der Molmassen, die für die APEO-Standards und die aus den PSM-Proben isolierten APEO mittels NPLC-FLD ermittelt wurden, in die Datenauswertung einfließen.

In Abhängigkeit von der Matrix, also dem Formulierungstyp, waren unterschiedliche Probenvorbereitungsmethoden notwendig. Hierzu wurden unterschiedliche Methoden etabliert. Für die Isolierung von APEO aus wasserdispergierbaren Granulaten oder Suspensionskonzentraten war die Flüssig-Fest-Extraktion mit Acetonitril und Ethanol unter Verwendung von Schüttelmaschinen oder Dispergiergeräten geeignet. APEO konnten aus wasserlöslichen oder aus in Wasser dispergierbaren Proben mit Hilfe der Wickbold-Methode durch Ausblasen mit N_2 in Ethylacetat aus der wässrigen Phase extrahiert werden. Bei emulgierbaren Konzentraten, die in unpolaren Lösemitteln wie n-Hexan, Cyclohexan oder Dichlormethan löslich sind, konnte mit Hilfe der Flüssig-Flüssig-Extraktion unter Verwendung von Essigsäure / Wasser 30:70 (*v/v*) und n-Hexan oder mittels SPE an Kieselgel ein Entfernen von störenden Matrixbestandteilen erreicht werden.

Durch den ergänzenden Einsatz der GC-MS und MALDI-ToF-MS konnte der Nachweis der APEO in den PSM abgesichert werden und es konnten die mittels Adsorptionschromatographie isolierten NPEO- und OPEO-Ethoxymere identifiziert werden. Ferner stellte die MALDI-ToF-MS eine gute Ergänzung zur NPLC-FLD bei der Bestimmung der Ethoxymerenverteilung dar, da sie APEO mit mittleren Ethoxylierungsgraden von über 20 einer Analyse zugänglich machte. Mit Hilfe der GC-MS konnten auch die Wirkstoffe in den PSM identifiziert werden.

Alle oben beschriebenen, für die Quantifizierung verwendeten Methoden wurden validiert, indem mit Hilfe von Aufstockungsexperimenten, durch Wiederfindungsexperimente mit synthetischen Proben oder mittels Kreuzvalidierung deren Richtigkeit überprüft wurde. Ferner konnte gezeigt werden, dass sie ebenfalls für Waschmittel, Reinigungsmittel,

Spülmittel und verschiedene Öle geeignet sind.

Mit Hilfe dieser Methoden ließen sich in acht von zehn untersuchten Pflanzenschutzmitteln APEO in Gehalten von $< 0,5\%$ (w/w) bis $> 10\%$ (w/w) nachweisen, die mit APEO mit mittleren Ethoxylierungsgrad zwischen $\bar{n}_{EO} = 3,5$ und $\bar{n}_{EO} = 9,5$ formuliert waren. Von den drei untersuchten wasserdispergierbaren Granulaten, die den Wirkstoff Metsulfuron-methyl enthielten, waren zwei mit OPEO in sehr ähnlichen Konzentrationen um $0,35\%$ (w/w) und mit sehr ähnlichen mittleren Ethoxylierungsgraden ($\bar{n}_{EO} \approx 8,7$) formuliert. In dem anderen Granulat wurden keine APEO nachgewiesen. Von den beiden Suspensionskonzentraten wurde nur in der Isoproturonformulierung NPEO nachgewiesen, wohingegen in allen emulgierbaren Konzentraten NPEO in sehr unterschiedlichen Konzentrationen und Ethoxylierungsgraden gefunden wurden.

In den ebenfalls untersuchten synthetischen Ölen sowie in den verschiedenen Reinigungsmitteln, Spülmitteln und Waschmittelpulvern wurden keine APEO nachgewiesen.

Um eine Bestandsaufnahme machen zu können, wie stark die zur Zeit noch durch PSM verursachte APEO-Belastung der Umwelt ist, wäre ein systematisches, flächendeckendes Screening von PSM-Produkten wünschenswert, da diese Untersuchungen gezeigt habe, dass PSM noch eine relevante Emissionsquelle von APEO darstellen. Mit dieser Arbeit wurde durch das Etablieren geeigneter analytischer Methoden eine Grundlage geschaffen, mit der ein solches Screening von Pflanzenschutzmitteln und auch anderen Zubereitungen möglich ist.

Anhang A

Meßunsicherheit der verwendeten Geräte

A.1 Analysenwaage

In **Tabelle A.1** sind die Spezifikationen der verwendete Analysenwaage AE 240 der Fa. Mettler-Toledo GmbH (Greiffensee, Schweiz) angegeben.

Tabelle A.1: Spezifikation der verwendeten Analysenwaage AE 240.

Meßbereich	Reproduzierbarkeit	Linearität
bis 40 <i>g</i>	0,02 <i>mg</i>	$\pm 0,03$ <i>mg</i>
bis 100 <i>g</i>	0,1 <i>mg</i>	$\pm 0,2$ <i>mg</i>

A.2 Kolbenhubpipetten

Es wurden verschiedene Kolbenhubpipetten und die entsprechenden Pipettenspitzen der Fa. Eppendorf AG (Hamburg) verwendet, deren Spezifikationen in den nachfolgenden Tabellen angegeben sind. Dabei handelte es sich um Kolbenhubpipetten vom Typ Reference[®] variabel (**Tab. A.2**), Research[®] variabel (**Tab. A.3**) und Varipette[®] (**Tab. A.4**).

Tabelle A.2: Spezifikation der verwendeten Kolbenhubpipetten Reference[®] variabel.

Typ	ep-Tip	Volumen	Toleranz	Präzision
50 μl –200 μl (gelb)	2 μl –200 μl	50 μl	$\pm 1,0 \%$	$\leq 0,3 \%$
		100 μl	$\pm 0,9 \%$	$\leq 0,3 \%$
		200 μl	$\pm 0,6 \%$	$\leq 0,2 \%$
100 μl –1000 μl (blau)	50 μl –1000 μl	100 μl	$\pm 1,6 \%$	$\leq 0,3 \%$
		500 μl –1000 μl	$\pm 0,6 \%$	$\leq 0,2 \%$
500 μl –2500 μl (rot)	500 μl –2500 μl	500 μl	$\pm 1,5 \%$	$\leq 0,3 \%$
		1000 μl	$\pm 0,8 \%$	$\leq 0,2 \%$
		2500 μl	$\pm 0,6 \%$	$\leq 0,2 \%$

Tabelle A.3: Spezifikation der verwendeten Kolbenhubpipette Research[®] variabel.

Typ	ep-Tip	Volumen	Toleranz	Präzision
10 μl –100 μl (gelb)	2 μl –200 μl	10 μl	$\pm 3,0 \%$	$\leq 1,0 \%$
		50 μl	$\pm 1,0 \%$	$\leq 0,3 \%$
		100 μl	$\pm 0,8 \%$	$\leq 0,2 \%$

Tabelle A.4: Spezifikation der verwendeten Kolbenhubpipette Varipette[®] 4720.

Tip	Volumen	Toleranz	Präzision
Varitip S	2,5 ml	$\pm 1,0 \%$	$\leq 0,2 \%$
	5,0 ml	$\pm 0,4 \%$	$\leq 0,15 \%$
	10,0 ml	$\pm 0,2 \%$	$\leq 0,15 \%$
Varitip P	1,0 ml	$\pm 0,6 \%$	$\leq 0,2 \%$
	5,0 ml	$\pm 0,5 \%$	$\leq 0,1 \%$
	10,0 ml	$\pm 0,3 \%$	$\leq 0,1 \%$

A.3 Vollpipetten

Die Spezifikationen der verwendeten Vollpipetten der Güteklasse BLAUBRAND[®] von der Fa. Brand GmbH + Co KG (Wertheim) sind in **Tabelle A.5** angegeben.

Tabelle A.5: Spezifikation der verwendeten Vollpipetten.

Nennvolumen	Toleranz	Bezugstemperatur	Justierung
10 ml	$\pm 0,02 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit
15 ml	$\pm 0,03 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit
20 ml	$\pm 0,03 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit
25 ml	$\pm 0,03 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit
30 ml	$\pm 0,03 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit
50 ml	$\pm 0,05 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit
100 ml	$\pm 0,08 \text{ ml}$	20 °C	Auslauf + 15 s Wartezeit

A.4 Meßkolben

Die Spezifikationen der verwendeten Meßkolben der Güteklasse BLAUBRAND® von der Fa. Brand GmbH + Co KG (Wertheim) sind der **Tabelle A.6** zu entnehmen.

Tabelle A.6: Spezifikation der verwendeten Meßkolben aus Glas.

Nennvolumen	Toleranz	Bezugstemperatur
10 ml	$\pm 0,04 \text{ ml}$	20 °C
20 ml	$\pm 0,04 \text{ ml}$	20 °C
25 ml	$\pm 0,04 \text{ (Enghals)}, \pm 0,06 \text{ ml (Weithals)}$	20 °C
50 ml	$\pm 0,06 \text{ (Enghals)}, \pm 0,08 \text{ ml (Weithals)}$	20 °C
100 ml	$\pm 0,1 \text{ ml}$	20 °C
250 ml	$\pm 0,15 \text{ ml}$	20 °C
500 ml	$\pm 0,25 \text{ ml}$	20 °C
1000 ml	$\pm 0,4 \text{ ml (Enghals)}$	20 °C

A.5 Schätzung der Meßunsicherheiten

Die Angabe von Konzentrationen, Massen usw. erfolgt jeweils unter Berücksichtigung der Meßunsicherheit der verwendeten Geräte durch Runden auf die signifikante Stelle. Es wurden für alle Lösungen, die mittels der in den **Anhängen A.1, A.2, A.3** und **A.4** angegebenen Geräte hergestellt wurden, mit Hilfe des Gauß'schen Fehlerfortpflanzungs-

gesetzes die Unsicherheiten der jeweiligen Konzentrationsangaben ermittelt. Dabei folgt für eine Größenangabe Y mit

$$Y = f(x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (\text{A.1})$$

für die mittlere, absolute Meßunsicherheit:

$$s_Y = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left[\left(\frac{\delta Y}{\delta x_i} \right)^2 \cdot s_{x_i}^2 \right]} \quad (\text{A.2})$$

Literaturverzeichnis

- [1] C. D. Adams, S. Spitzer und R. M. Cowan. Biodegradation of Nonionic Surfactants and Effects of Oxidative Pretreatment. *Journal of Environmental Engineering*, 122(6):477–483, 1996.
- [2] S. A. Adeoya-Osiguwa, S. Markoulaki, V. Pocock, S. R. Milligan und L. R. Fraser. 17β -Estradiol and Environmental Estrogens Significantly Affect Mammalian Sperm Function. *Human Reproduction*, 18(1):100–107, 2003.
- [3] M. Ahel und W. Giger. Determination of Alkylphenols and Alkylphenol Mono- and Di-ethoxylates in Environmental Samples by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 57(8):1577–1583, 1985.
- [4] M. Ahel und W. Giger. Determination of Nonionic Surfactants of the Alkylphenols Polyethoxylate Type by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 57(13):2584–2590, 1985.
- [5] M. Ahel und W. Giger. Aqueous Solubility of Alkylphenols and Alkylphenol Polyethoxylates. *Chemosphere*, 26(8):1461–1470, 1993.
- [6] M. Ahel und W. Giger. Partitioning of Alkylphenols and Alkylphenol Polyethoxylates Between Water and Organic Solvents. *Chemosphere*, 26(8):1471–1478, 1993.
- [7] M. Ahel, W. Giger und M. Koch. Behavior of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment. I. Occurrence and Transformation in Sewage-Treatment. *Water Research*, 28(5):1131–1142, 1994.
- [8] M. Ahel, W. Giger, E. Molnar und S. Ibrić. Determination of Nonylphenol Polyethoxylates and their Lipophilic Metabolites in Sewage Effluents by Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography and Fluorescence Detection. *Croatica Chemica Acta*, 73(1):209–227, 2000.
- [9] M. Ahel, W. Giger, E. Molnar, S. Ibrić, C. Ruprecht und C. Schaffner. Nonylphenolic Chemicals Revisited in Switzerland: Monitoring Wastewater Effluents and Ambient

- Waters before and after Risk Reduction Measures. *Preprints of Extended Abstracts presented at the ACS National Meeting, American Chemical Society, Division of Environmental Chemistry*, 38(2):276–278, 1998.
- [10] M. Ahel, W. Giger und C. Schaffner. Behavior of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment. II. Occurrence and Transformation in Rivers. *Water Research*, 28(5):1143–1152, 1994.
- [11] M. Ahel, D. Hrsak und W. Giger. Aerobic Transformation of Short-Chain Alkylphenol Polyethoxylates by Mixed Bacterial Cultures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(4):540–548, 1994.
- [12] M. Ahel, J. McEvoy und W. Giger. Bioaccumulation of the Lipophilic Metabolites of Nonionic Surfactants in Fresh-Water Organisms. *Environmental Pollution*, 79(3):243–248, 1993.
- [13] M. Ahel, E. Molnar, S. Ibrić und W. Giger. Estrogenic Metabolites of Alkylphenol Polyethoxylates in Secondary Sewage Effluents and Rivers. *Water Science and Technology*, 42(7–8):15–22, 2000.
- [14] M. Ahel, C. Schaffner und W. Giger. Behaviour of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment. III. Occurrence and Elimination of Their Persistent Metabolites during Infiltration of River Water to Groundwater. *Water Research*, 30(1):37–46, 1996.
- [15] M. Ahel, F. E. Scully, J. Hoigne und W. Giger. Photochemical Degradation of Nonylphenol and Nonylphenol Polyethoxylates in Natural Waters. *Chemosphere*, 28(7):1361–1368, 1994.
- [16] G. C. Allan, J. R. Aston und T. W. Grieser, F und Healy. Partitioning of a Polydisperse Nonionic Surfactant (Nonyl Phenol Ethoxylate) Between Water and Hexane. *Journal of Colloid and Interface Science*, 128(1):258–274, 1989.
- [17] D. Allison. *Adjuvants and Additives in Crop Protection*. Agrow Reports. PJB Publications Ltd, Richmond / Surrey, 2003.
- [18] Alltech. *Alltech Application Note 0039E*.
- [19] American Society for Testing and Materials ASTM. *Standard Test Method for Ethylene Oxide Content of Polyethoxylated Nonionic Surfactants*, West Conshohocken, 2003. ASTM International. D2959-95(2003).

- [20] American Water Works Association. *Water Pollution Control Federation Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water*, Washington, DC, 1989. American Public Health Association APHA. Method 5540.
- [21] D. F. Anghel, M. Balcan, A. Voicu und M. Elian. Analysis of Ethoxylated Nonylphenol by Normal-Phase Liquid Chromatography. *Rev. Chim. (Bucharest)*, 38(2):148–151, 1987.
- [22] D. F. Anghel, M. Balcan, A. Voicu und M. Elian. Analysis of Alkylphenol-Based Non-Ionic Surfactants by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 668(2):375–383, 1994.
- [23] R. Aranda, P. Kruus und R. C. Burk. Assessment of Polycrystalline Graphites as Sorbents for Solid-Phase Microextraction of Nonionic Surfactants. *Journal of Chromatography A*, 888(1–2):35–41, 2000.
- [24] A. Arukwe, A. Goksoyr, R. Thibaut und J. P. Cravedi. Metabolism and Organ Distribution of Nonylphenol in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Marine Environmental Research*, 50(1–5):141–145, 2000.
- [25] A. Arukwe, R. Thibaut, K. Ingebrigtsen, T. Celius, A. Goksoyr und J. P. Cravedi. In Vivo and In Vitro Metabolism and Organ Distribution of Nonylphenol in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicology*, 49(4):289–304, 2000.
- [26] F. O. Ayorinde und E. Elhilo. Determination of the Instrumental Detection Limits of Commercial Nonylphenol Ethoxylates with a Wide Range of Molecular Masses Using Matrix-assisted Laser Desorption/ionization Time-of-flight Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13(21):2166–2173, 1999.
- [27] F. O. Ayorinde, B. E. Eribo, J. H. Johnson, Jr. und E. Elhilo. Molecular Distribution of Some Commercial Nonylphenol Ethoxylates Using Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13(12):1124–1128, 1999.
- [28] F. O. Ayorinde, P. Hambright, T. N. Porter und Q. L. Keith, Jr. Use of *meso*-Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin as a Matrix for Low Molecular Weight Alkylphenol Ethoxylates in Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13(24):2474–2479, 1999.
- [29] L. B. Barber, G. K. Brown und S. D. Zaugg. Potential Endocrine Disrupting Organic Chemicals in Treated Municipal Wastewater and River Water. In *Analysis of*

- Environmental Endocrine Disruptors*, Band 747 von *ACS Symposium Series*, Seiten 97–123. American Chemical Society, 2000.
- [30] D. Barceló, J. Dachs und S. Alcock. *Biosensors for Evaluation of the Performance of Waste Water Treatments Works*. Bioset, Barcelona, 2000. Final Report.
- [31] D. C. W. A. R. E. J. Barry, J.P.; Radtke. Analysis of Ethoxylated Polymers by Capillary Electrophoresis in UV-Transparent Polymer Networks and by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 800(1):13–19, 1998.
- [32] A. Behr. Hydrocarbons - 2. Olefins. In B. Elvers, S. Hawkins, M. Ravenscroft und G. Schulz (Hrsg.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Band A 13, Seiten 238–253. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 5. Auflage, 1989.
- [33] A. C. Belfroid, P. de Voogt, E. G. van der Velde, G. B. J. Rijs, G. J. Schäfer und A. D. Vethaak. Occurrence of Estrogenic and Xeno-Estrogenic Compounds in Waste Water and Environmental Matrices. In A. D. Vethaak, G. B. J. Rijs, B. Van der Burg und A. Brouwer (Hrsg.), *Endocrine-Disrupting Compounds: Wildlife and Human Health Risks*, Seiten 31–37. Rijksinstituut voor Kust en Zee RIKZ, Den Haag, 2000.
- [34] M. A. Belmont, M. Ikonomidou und C. D. Metcalfe. Presence of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants in a Watershed in Central Mexico and Removal from Domestic Sewage in a Treatment Wetland. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(1):29–35, 2006.
- [35] E. R. Bennet und C. D. Metcalfe. Distribution of Alkylphenol Compounds in Great Lakes Sediments, United States and Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(7):1230–1235, 1998.
- [36] E. R. Bennet und C. D. Metcalfe. Distribution of Degradation Products of Alkylphenol Ethoxylates near Sewage Treatment Plants in the Lower Great Lakes, North America. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(4):784–792, 2000.
- [37] D. T. Bennie. Review of the Environmental Occurrence of Alkylphenols and Alkylphenol Ethoxylates. *Water Quality Research Journal of Canada*, 34(1):79–122, 1999.
- [38] D. T. Bennie, C. A. Sullivan, H. B. Lee, T. E. Peart und R. J. Maguire. Occurrence of Alkylphenols and Alkylphenol Mono- and Diethoxylates in Natural Waters of the Laurentian Great Lakes Basin and the Upper St Lawrence River. *Science of the Total Environment*, 193(3):263–275, 1997.

- [39] K. Bester, N. Theobald und H. F. Schröder. Nonylphenols, Nonylphenol-ethoxylates, Linear Alkylbenzenesulfonates (LAS) and Bis(4-chlorophenyl)-sulfone in the German Bight of the North Sea. *Chemosphere*, 45(6–7):817–826, 2001.
- [40] E. Böhm, T. Hillenbrand und F. Marscheider-Weidemann. *Ermittlung der Quellen für die prioritären Stoffe nach Artikel 16 der Wasserrahmenrichtlinie und Abschätzung ihrer Eintragsmengen in die Gewässer in Deutschland*. Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Texte 68 / 02. Umweltbundesamt, Berlin, 2002. Forschungsbericht 200 28 234.
- [41] M. A. Blackburn, S. J. Kirby und M. J. Waldock. Concentrations of Alkylphenol Polyethoxylates Entering UK Estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 38(2):109–118, 1999.
- [42] M. A. Blackburn und M. J. Waldock. Concentrations of Alkylphenols in Rivers and Estuaries in England and Wales. *Water Research*, 29(7):1623–1629, 1995.
- [43] I. B. Bøgh, P. Christensen, V. Dantzer, M. Groot, I. C. N. Thofner, R. K. Rasmussen, M. Schmidt und T. Greve. Endocrine Disrupting Compounds: Effect of Octylphenol on Reproduction Over Three Generations. *Theriogenology*, 55(1):131–150, 2001.
- [44] U. Bolz, H. Hagenmaier und W. Körner. Phenolic Xenoestrogens in Surface Water, Sediments, and Sewage Sludge from Baden-Württemberg, South-West Germany. *Environmental Pollution*, 115(2):291–301, 2001.
- [45] A. A. Boyd-Boland und J. B. Pawliszyn. Solid-Phase Microextraction Coupled with High-Performance Liquid Chromatography for the Determination of Alkylphenol Ethoxylate Surfactants in Water. *Analytical Chemistry*, 68(9):1521–1529, 1996.
- [46] N. Brand, G. Mailhot und M. Bolte. Degradation Photoinduced by Fe(III): Method of Alkylphenol Ethoxylates Removal in Water. *Environmental Science & Technology*, 31(18):2715–2720, 1998.
- [47] B. Bravo, G. Chavez, F. Ysambertt und N. Marquez. Study of Non-Ionic Polyethoxylated Surfactants Used in Enhanced Oil Recovered by HPLC. *Ciencia (Maracaibo)*, 9(2):266–276, 2001.
- [48] G. G. Briggs und R. H. Bromilow. Influence of Physicochemical Properties on Uptake and Loss of Pesticides and Adjuvants from the Leaf Surface. In P. J. Holloway, R. Rees und D. Stock (Hrsg.), *Ernst Schering Research Foundation Workshop 12 - Interactions Between Adjuvants, Agrochemicals and Target Organisms*, Seiten 1–26. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, 1994.

- [49] W. C. Brumley, W. J. Jones und A. H. Grange. A Survey of Potential Applications of High-Temperature Capillary Gas Chromatography for Environmental Analysis. *LC GC*, 13(3):228–238, 1995.
- [50] J. Bullock. Application of Capillary Electrophoresis to the Analysis of the Oligomeric Distribution of Polydisperse Polymers. *Journal of Chromatography*, 645(1):169–177, 1993.
- [51] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). *Beistoffe in zugelassenen Pflanzenschutzmitteln*, Stand: März 2008. Internet: http://www.bvl.bund.de/eln_027/nn_492022/DE/04_Pflanzenschutzmittel/00_doks_downloads/zul_info_liste_beistoffe_templateId=raw_property=publicationFile.pdf/zul_info_liste_beistoffe.pdf (8 April 2008).
- [52] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). *Funktion von Beistoffen in Pflanzenschutzmitteln*. Internet: http://www.bvl.bund.de/eln_027/nn_492022/DE/04_Pflanzenschutzmittel/09_Produktchemie/funktionBeistoffe.html (8. April 2008).
- [53] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). *Nonylphenolethoxylate (NPE) in Pflanzenschutzmittel*. Internet: http://www.bvl.bund.de/eln_027/nn_492022/DE/04_Pflanzenschutzmittel/09_Produktchemie/produktchemie/nonylphenole.html (8. April 2008).
- [54] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). *Produktchemie: Beistoffe und Formulierungsschemie*. Internet: http://www.bvl.bund.de/eln_027/nn_492022/DE/04_Pflanzenschutzmittel/09_Produktchemie/produktchemie_node.html_nnn=true#doc492328bodyText1 (8. April 2008).
- [55] A. Cahn und J. L. Lynn Jr. Surfactants and Detersive Systems. In H. Mark, D. Othmer, C. Overberger, G. Seaborg, M. Grayson und D. Eckroth (Hrsg.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Band 22, Seiten 332–432. John Wiley & Sons, New York / Chichester / Brisbane / Toronto / Singapore, 3. Auflage, 1983.
- [56] M. Castillo, M. C. Alonso, J. Riu, M. Reinke, G. Klöter, H. Dizer, B. Fischer, P. D. Hansen und D. Barceló. Identification of Cytotoxic Compounds in European Wastewaters during Field Experiment. *Analytica Chimica Acta*, 426(2):265–277, 2001.
- [57] M. Castillo und D. Barceló. Characterization of Organic Pollutants in Textile Wastewaters and Landfill Leachate by Using Toxicity-Based Fractionation Methods

- Followed by Liquid and Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometric Detection. *Analytica Chimica Acta*, 426(2):253–264, 2001.
- [58] M. Castillo, E. Martinez, A. Ginebreda, L. Tirapu und D. Barceló. Determination of Non-Ionic Surfactants and Polar Degradation Products in Influent and Effluent Water Samples and Sludges of Sewage Treatment Plants by a Generic Solid-Phase Extraction Protocol. *Analyst*, 125(10):1733–1739, 2000.
- [59] M. Castillo, G. Penuela und D. Barceló. Identification of Photocatalytic Degradation Products of Non-Ionic Polyethoxylated Surfactants in Waste Waters by Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography - Mass-Spectrometric Detection. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 369(7–8):620–628, 2001.
- [60] S. Cathum und H. Sabik. Simultaneous Determination of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants and Their Degradation Products in Water, Effluent and Mussel Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 53(Suppl.):S400–S405, 2001.
- [61] P. Y. Caux, P. Weinberger und D. B. Carlisle. A Physiological Study of the Effect of Triton Surfactants on *Lemna minor* L. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7(8):671–676, 1988.
- [62] CESIO, European Committee of Organic Surfactants and Their Intermediates. Statistiken 1998 bis 2006. Internet: <http://www.cefic.be/Chemistry Sectors/Detergents/Cesio>.
- [63] R. Céspedes, S. Lacorte, A. Ginebreda und D. Barceló. Chemical Monitoring and Occurrence of Alkylphenols, Alkylphenol Ethoxylates, Alcohol Ethoxylates, Phthalates and Benzothiazoles in Sewage Treatment Plants and Receiving Waters along the Ter River Basin (Catalonia, N. E. Spain). *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 385(6):992–1000, 2006.
- [64] N. Chalaux, J. M. Bayona und Albaigés. Determination of Nonylphenols as Pentafluorobenzyl Derivatives by Capillary Gas Chromatography with Electron-Capture and Mass Spectrometric Detection in Environmental Matrices. *Journal of Chromatography A*, 686(2):275–2281, 1994.
- [65] N. Chalaux, J. M. Bayona, M. I. Venkatesan und Albaigés. Distribution of Surfactants Markers in Sediments from Santa Monica Basin, Southern California. *Marine Pollution Bulletin*, 24(8):403–407, 1992.

- [66] D. G. Chasin und K. P. Vandegrift. Quality Control of Surfactants for Pesticide Formulations. In D. A. Hovde und G. B. Beestman (Hrsg.), *Pesticide Formulations and Application Systems (ASTM STP 980)*, Band 8, Seiten 89–97. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1988.
- [67] Cheng. Determination of Nonylphenol Polyethoxylates in Household Detergents by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 968(1–2):143–150, 2002.
- [68] S. Chiron, E. Sauvard und R. Jeannot. Determination of Nonionic Polyethoxylate Surfactants in Waste Water and Sludge Samples of Sewage Treatment Plants by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analisis*, 28(6):535–542, 2000.
- [69] T. M. Chow, B. Daniels und M. Piwoni. Analysis of Surfactants in Industrial Cleaners to Support Membrane Ultrafiltration Treatment Evaluations. *American Laboratory*, 32(5):96–97, 2000.
- [70] B. J. Chung und Y. W. Kwon. Relationship Between Surfactant Properties and Wettability of Rice Leaf Surfaces for Several Surfactants. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 37–58. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [71] Clariant GmbH, Functional Chemicals Devision, Crop Protection. *Dispersing Agents for Crop Protection Formulations*. Internet: [http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Broschüre Dispersing Agents final, 28.11.01.pdf](http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Broschüre%20Dispersing%20Agents%20final,28.11.01.pdf) (7. Juni 2006), Dezember 2001.
- [72] Clariant GmbH, Functional Chemicals Devision, Crop Protection. *Emulsifiers for Crop Protection Formulations*. Internet: [http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Broschuere Emulsifier final, 28.11.01.pdf](http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Broschuere%20Emulsifier%20final,28.11.01.pdf) (7. Juni 2006), Dezember 2001.
- [73] Clariant GmbH, Functional Chemicals Devision, Crop Protection. *Crop Protection Formulations Emulsifiable Concentrate*. Internet: [http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Crop Protection Formulations Emulsifiable Concentrate.pdf](http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Crop%20Protection%20Formulations%20Emulsifiable%20Concentrate.pdf) (7. Juni 2006), September 2002.
- [74] Clariant GmbH, Functional Chemicals Devision, Crop Protection. *Crop Protection Formulations Wettable Powder*. Internet: [http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Crop Protection Formulations Wettable Powder.pdf](http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Crop%20Protection%20Formulations%20Wettable%20Powder.pdf) (7. Juni 2006), September 2002.

- [75] Clariant GmbH, Functional Chemicals Division, Crop Protection. *Crop Protection Formulations Suspension Concentrates*. Internet: <http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/SuspensionConc.pdf> (7. Juni 2006), Februar 2004.
- [76] Clariant Iberica, S.A. Inspection Certificate Arkopal N 200, November 2003.
- [77] L. B. Clark, R. T. Rosen, T. G. Hartman, J. B. Louis, I. H. Suffet, R. L. Lippincott und J. D. Rosen. Determination of Alkylphenol Ethoxylates and Their Acetic Acid Derivatives in Drinking Water by Particle Beam Liquid Chromatography - Mass Spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 47(3):167–180, 1992.
- [78] A. Cohen, K. Klint, S. Bøwadt, P. Persson und J. A. Jönsson. Routine Analysis of Alcohol and Nonylphenol Polyethoxylates in Wastewater and Sludge Using Liquid Chromatography-Electro Spray Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 927(1–2):103–110, 2001.
- [79] J. H. Combellack, A. McShane und R. G. Richardson. The Influence of Adjuvants on the Performance of a Glyphosate/2,4-D Mixture. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 303–310. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [80] M. H. I. Comber, T. D. Williams und K. M. Stewart. The Effects of Nonylphenol on *Daphnia magna*. *Water research*, 27(2):273–276, 1993.
- [81] L. G. Copping. *Adjuvants and Additives in Crop Protection*. Agrow Reports. PJB Publications Ltd, Richmond / Surrey, 2000.
- [82] S. R. Corsi, D. H. Zitomer, J. A. Field und D. A. Cancilla. Nonylphenol Ethoxylates and Other Additives in Aircraft Deicers, Antiicers, and Waters Receiving Airport Runoff. *Environmental Science & Technology*, 37(18):4031–4037, 2003.
- [83] C. Crescenzi, A. Di Corcia, R. Samperi und A. Marcomini. Determination of Nonionic Polyethoxylate Surfactants in Environmental Waters by Liquid-Chromatography/Electrospray Mass-Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 67(11):1797–1804, 1995.
- [84] V. Croce, S. Paggio, A. Pagnoni, S. Polesello und S. Valsecchi. Determination of 4-Nonylphenol and 4-Nonylphenol Ethoxylates in River Sediments by Microwave Assisted Solvent Extraction. *Annali di Chimica*, 93(3):297–304, 2003.

- [85] J. Cross. Introduction to Nonionic Surfactants. In J. Cross (Hrsg.), *Nonionic Surfactants: Chemical Analysis*, Band 19 von *Surfactant Science Series*, Seiten 3–28. Marcel Dekker, New York, 1987.
- [86] J. Cross. Metal Ion Complexes of Polyoxyalkylene Chains. In J. Cross (Hrsg.), *Nonionic Surfactants: Chemical Analysis*, Band 19 von *Surfactant Science Series*, Seiten 31–75. Marcel Dekker, 1987.
- [87] T. Cserháti. Alkyl Ethoxylated and Alkylphenol Ethoxylated Nonionic Surfactants: Interaction with Bioactive Compounds and Biological Effects. *Environmental Health Perspectives*, 103(4):358–364, 1995.
- [88] J. Dachs, D. A. Van Ry und S. J. Eisenreich. Occurrence of Estrogenic Nonylphenols in the Urban and Coastal Atmosphere of the Lower Hudson River Estuary. *Environmental Science & Technology*, 33(15):2676–2679, 1999.
- [89] S. Datta, J. E. Loyo-Rosales und C. P. Rice. A Simple Method for the Determination of Trace Levels of Alkylphenolic Compounds in Fish Tissues Using Pressurized Fluid Extraction, Solid Phase Cleanup, and High-Performance Liquid Chromatography Fluorescence Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6):1350–1354, 2002.
- [90] A. Díaz, F. Ventura und M. T. Galceran. Development of a Solid-Phase Microextraction Method for the Determination of Short-Ethoxy-Chain Nonylphenols and Their Brominated Analogs in Raw and Treated Water. *Journal of Chromatography A*, 963(1–2):159–167, 2002.
- [91] A. Díaz, F. Ventura und M. T. Galceran. Simultaneous Determination of Estrogenic Short Ethoxy Chain Nonylphenols and Their Acidic Metabolites in Water by an In-Sample Derivatization/Solid-Phase Microextraction Method. *Analytical Chemistry*, 74(15):3869–3876, 2002.
- [92] M. De la Guardia, J. L. Carrión und J. Medina. The Use of Ultraviolet-Visible Spectrophotometry in the Determination of Average Properties of Nonylphenol Ethylene Oxide Condensates. *Analytica Chimica Acta*, 155:113–121, 1983.
- [93] H. de Ruiter, E. Meinen und M. A. M. Verbeck. Influence of the Type and Concentration of Surfactant on Glyphosate Absorption; Relevance of Drop Spreading and Drying Time. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 109–116. CRC Press, Boca Raton, 1992.

- [94] P. de Voogt, K. de Beer und F. van der Wielen. Determination of Alkylphenol Ethoxylates in Industrial and Environmental Samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 16(10):584–595, 1997.
- [95] P. de Voogt, O. Kwast, R. Hendriks und N. Jonkers. Alkylphenol Ethoxylates and their Degradation Products in Abiotic and Biological Samples from the Environment. *Analisis*, 28(9):776–782, 2000.
- [96] P. de Voogt, O. Kwast, R. Hendriks und N. Jonkers. Occurrence of (Xeno-)Estrogens in the Environment: Alkylphenoles and Alkylphenol Ethoxylates. In A. D. Vethaak, G. B. J. Rijs, S. M. Schrap, H. Ruiter, A. Gerritsen und J. Lahr (Hrsg.), *Estrogens and Xeno-Estrogens in the Aquatic Environment of the Netherlands – Occurrence, Potency and Biological Effects*, RIKZ/RIZA-report no. 2002.001, Seiten 96–106. Rijksinstituut voor Kust en Zee RIKZ / Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, Den Haag / Lelystad, 2002.
- [97] T. A. Dean und C. F. Poole. Solventless Injection for Packed Column Supercritical Fluid Chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*, 12(12):773–778, 1989.
- [98] H. Destailats, H. M. Hung und M. R. Hoffmann. Degradation of Alkylphenol Ethoxylate Surfactants in Water with Ultrasonic Irradiation. *Environmental Science & Technology*, 34(2):311–317, 2000.
- [99] Deutsches Institut für Normung DIN e.V. *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H) – Bestimmung der methylenblauaktiven und der bismutaktiven Substanzen (H 23)*, Berlin, Mai 1980. Beuth Verlag GmbH. DIN 38409-H23.
- [100] Deutsches Institut für Normung DIN e.V. *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Allgemeine Angaben (Gruppe A) – Kalibrierung von Analyseverfahren, Auswertung von Analyseergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (A 51)*, Berlin, Mai 1986. Beuth Verlag GmbH. DIN 38402-A51.
- [101] Deutsches Institut für Normung DIN e.V. *Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze – Ermittlung unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung*, Berlin, Mai 1994. Beuth Verlag GmbH. DIN 32645.
- [102] Deutsches Institut für Normung DIN e.V. *Bestimmung von Trübungspunkten nicht-ionischer, durch Anlagerung von Ethylenoxid hergestellter grenzflächenaktiver Stoffe*, Berlin, März 1999. Beuth Verlag GmbH. DIN EN 1890.

- [103] Deutsches Institut für Normung DIN e.V. *Prüfung fester Brennstoffe – Bestimmung des Gesamtgehaltes an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff – Instrumentelle Methoden*, Berlin, August 2007. Beuth Verlag GmbH. DIN 51732.
- [104] A. Di Corcia. Characterization of Surfactants and Their Biointermediates by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 794(1–2):165–185, 1998.
- [105] A. Di Corcia, R. Cavallo, C. Crescenzi und M. Nazzari. Occurrence and Abundance of Dicarboxylated Metabolites of Nonylphenol Polyethoxylate Surfactants in Treated Sewages. *Environmental Science & Technology*, 34(18):3914–3919, 2000.
- [106] A. Di Corcia, A. Costantino, C. Crescenzi, E. Marinoni und R. Samperi. Characterization of Recalcitrant Intermediates from Biotransformation of the Branched Alkyl Side Chain of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants. *Environmental Science & Technology*, 32(16):2401–2409, 1998.
- [107] A. Di Corcia, R. Samperi und A. Marcomini. Monitoring Aromatic Surfactants and their Biodegradation Intermediates in Raw and Treated Sewages by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography. *Environmental Science & Technology*, 28(5):850–858, 1994.
- [108] R. Diez und A. Morra. Determination of the Degree of Ethoxylation of Non-Ionic Surfactants by Elemental Analysis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65(7):1202–1203, 1988.
- [109] W.-H. Ding und C. T. Chen. Analysis of Nonylphenol Polyethoxycarboxylates and Their Related Metabolites by Online Derivatization and Ion-Trap Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 862(1):113–120, 1999.
- [110] W.-H. Ding und J. C. H. Fann. Application of Pressurized Liquid Extraction Followed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry to Determine 4-Nonylphenols in Sediments. *Journal of Chromatography A*, 866(1):79–85, 2000.
- [111] W.-H. Ding und S.-H. Tzing. Analysis of Nonylphenol Polyethoxylates and Their Degradation Products in River Water and Sewage Effluent by Gas Chromatography-Ion Trap (Tandem) Mass Spectrometry with Electron Impact and Chemical Ionization. *Journal of Chromatography A*, 824(1):79–90, 1998.
- [112] W.-H. Ding, S.-H. Tzing und J. H. Lo. Occurrence and Concentrations of Aromatic Surfactants and Their Degradation Products in River Waters of Taiwan. *Chemosphere*, 38(11):2597–2606, 1999.

- [113] W.-H. Ding und C. Y. Wu. Structural Elucidation of Dicarboxylated Metabolites of Nonylphenol Polyethoxylate Surfactants in Surface Waters by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15(22):2193–2197, 2001.
- [114] W.-H. Ding, J. Wu, M. Semadeni und M. Reinhard. Occurrence and Behavior of Wastewater Indicators in the Santa Ana River and the Underlying Aquifers. *Chemosphere*, 39(11):1781–1794, 1999.
- [115] J. E. Drewes, M. Reinhard und P. Fox. Comparing microfiltration-reverse osmosis and soil-aquifer treatment for indirect potable reuse of water. *Water Research*, 37(15):3612–3621, 2003.
- [116] C. Drugărin, G. P und I. Jianu. Determination of the Ethoxylation Degree of Nonylphenols. *Tenside Detergents*, 18(6):308–309, 1981.
- [117] S. T. Dubey, L. Kravetz und J. P. Salanitro. Analysis of Nonionic Surfactants in Bench-Scale Biotreater Samples. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(1):23–30, 1995.
- [118] P. Eichhorn, M. Petrović, D. Barceló und T. P. Knepper. Fate of Surfactants and their Metabolites in Waste Water Treatment Plants. *Vom Wasser*, 95:245–268, 2000.
- [119] J. Ejlerthsson, M. L. Nilsson, H. Kylin, A. Bergman, L. Karlson, M. Öquist und B. H. Svensson. Anaerobic Degradation of Nonylphenol Mono- and Diethoxylates in Digester Sludge, Landfilled Municipal Solid Waste, and Landfilled Sludge. *Environmental Science & Technology*, 33(2):301–306, 1999.
- [120] S. El-Khateeb, S. M. Hassan, A. K. S. Ahmad und M. M. Amer. Spectrophotometric Determination of Some Nonionic Surfactants. *Tenside Detergents*, 16(1):27–29, 1979.
- [121] Environment Canada und Health Canada. *Nonylphenol and its Ethoxylates*. April 2001. Canadian Environmental Protection Act, 1999, Priority Substances List Assessment Report.
- [122] C. R. Enyeart. Polyoxyethylene Alkylphenols. In M. J. Schick (Hrsg.), *Nonionic Surfactants*, Band 1 von *Surfactant Science Series*. Marcel Dekker, New York, 1966.
- [123] R. Espejo, K. Valter, M. Simona, Y. Janin und P. Arrizabalaga. Determination of Nineteen 4-Alkylphenol Endocrine Disrupters in Geneva Municipal Sewage Wastewater. *Journal of Chromatography A*, 976(1–2):335–343, 2002.

- [124] European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau (ECB). 4-Nonyl-phenol (branched) and nonylphenol. In B. G. Hansen, S. J. Munn, J. De Bruijn, S. Paklin, M. Luotamo, F. Berthault, S. Vegro, C. J. A. Heidorn, G. Pellegrini, K. Vormann, R. Allanou und S. Scheer (Hrsg.), *European Union Risk Assessment Report*, Band 10. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2002.
- [125] Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union. Richtlinie 2003/53/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Juni 2003 zur 26. Änderung der Richtlinie 76/769/EWG des Rates über die Beschränkung des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen (Nonylphenol, Nonylphenoethoxylat und Zement). Amtsblatt der Europäischen Union L178/24 vom 17.7.2003.
- [126] R. H. Falk. Influence of Formulation and Adjuvants on the Foliar Location and Physical Form of the Active Ingredient. In P. J. Holloway, R. Rees und D. Stock (Hrsg.), *Ernst Schering Research Foundation Workshop 12 – Interactions Between Adjuvants, Agrochemicals and Target Organisms*, Seiten 53–82. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, 1994.
- [127] P. L. Ferguson, C. R. Iden und B. J. Brownawell. Analysis of Alkylphenol Ethoxylate Metabolites in the Aquatic Environment Using Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 72(18):4332–4330, 2000.
- [128] P. L. Ferguson, C. R. Iden und B. J. Brownawell. Analysis of Nonylphenol and Nonylphenol Ethoxylates in Environmental Samples by Mixed-Mode High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 938(1–2):79–91, 2001.
- [129] P. L. Ferguson, C. R. Iden und B. J. Brownawell. Distribution and Fate of Neutral Alkylphenol Ethoxylate Metabolites in a Sewage-Impacted Urban Estuary. *Environmental Science & Technology*, 35(12):2428–2435, 2001.
- [130] F. Ferrara, F. Fabietti, M. Delise, A. Piccioli Bocca und E. Funari. Alkylphenolic Compounds in Edible Molluscs of the Adriatic Sea (Italy). *Environmental Science & Technology*, 35(15):3109–3112, 2001.
- [131] A. M. R. Ferreira-Leach und E. M. Hill. Bioconcentration and Metabolism of 4-tert-Octylphenol in Roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Analisis*, 28(9):789–792, 2000.

- [132] A. M. R. Ferreira-Leach und E. M. Hill. Bioconcentration and Distribution of 4-*tert*-Octylphenol Residues in Tissues of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Environmental Research*, 51(1):75–89, 2001.
- [133] H. Fiege, H.-W. Voges, T. Hamamoto, S. Umemura, T. Iwata, H. Miki, Y. Fujita, H.-J. Buysch, D. Garbe und W. Paulus. Phenol Derivatives. In B. Elvers, S. Hawkins und W. Russey (Hrsg.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Band A 19, Seiten 313–368. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 5. Auflage, 1991.
- [134] J. A. Field und R. L. Reed. Nonylphenol Polyethoxy Carboxylate Metabolites of Nonionic Surfactants in US Paper Mill Effluents, Municipal Sewage Treatment Plant Effluents, and River Waters. *Environmental Science & Technology*, 30(12):3544–3550, 1996.
- [135] J. A. Field und R. L. Reed. Subcritical (Hot) Water/Ethanol Extraction of Nonylphenol Polyethoxy Carboxylates from Industrial and Municipal Sludges. *Environmental Science & Technology*, 33(16):2782–2787, 1999.
- [136] E. Forgacs und T. Cserhati. Use of Alumina Support for the Separation of Ethoxylated Oligomer Surfactants According to the Length of the Ethyleneoxide Chain. *Analytical Letters*, 29(2):321–340, 1996.
- [137] M. Fránek, J. Zeravík, S. Eremin, J. Yakovleva, M. Badea, A. Danet, C. Nistor, N. Ocio und J. Emnéus. Antibody-Based Methods for Surfactant Screening. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371(4):456–466, 2001.
- [138] M. Franska, R. Franski, A. Szymanski und Z. Lukaszewski. A Central Fission Pathway in Alkylphenol Ethoxylate Biodegradation. *Water Research*, 37(5):1005–1014, 2003.
- [139] G. N. Freeland, G. B. Guise und I. M. Russell. Sorption and Analysis of Some Nonylphenol Ethoxylate Surfactants on Wool. *Textile Research Journal*, 55(6):358–363, 1985.
- [140] E. Fries und W. Püttmann. Occurrence of 4-Nonylphenol in Rain and Snow. *Atmospheric Environment*, 38:2013–2016, 2004.
- [141] H. Fromme, T. Otto, K. Pilz, T. Lahrz und D. Führling. *Expositionsmonitoring endokrin wirksamer Substanzen in verschiedenen Umweltkompartimenten*. Institut für Umweltanalytik und Humantoxikologie im Auftrag des Bundesumweltamtes, Berlin, 1998. Forschungsbericht 216 02 001 / 12.

- [142] M. Fujita, M. Ike, K. Mori, H. Kaku, Y. Sakaguchi, M. Asano, H. Maki und T. Nishihara. Behaviour of Nonylphenol Ethoxylates in Sewage Treatment Plants in Japan – Biotransformation and Ecotoxicity. *Water Science and Technology*, 42(7–8):23–30, 2000.
- [143] K. Fytianos, S. Pegiadou, N. Raikos, I. Eleftheriadis und H. Tsoukali. Determination of non-ionic surfactants (polyethoxylated-nonylphenols) by HPLC in waste waters. *Chemosphere*, 35(7):1423–1429, 1997.
- [144] F. L. P. Gabriel, W. Giger, K. Günther und H.-P. E. Kohler. Differential Degradation of Nonylphenol Isomers by *Sphingomonas xenophaga* Bayram. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3):1123–1129, 2005.
- [145] F. L. P. Gabriel, A. Heidlberger, D. Rentsch, W. Giger, K. Günther und H.-P. E. Kohler. A Novel Metabolic Pathway for Degradation of 4-Nonylphenol Environmental Contaminants by *Sphingomonas xenophaga* Bayram. *Ipsso-Hydroxylation and Intramolecular Rearrangement*. *Journal of Biological Chemistry*, 280(16):15526–15533, 2005.
- [146] N. García-Reyero, E. Grau, M. Castillo, M. J. López De Alda, D. Barceló und B. Piña. Monitoring of Endocrine Disruptors in Surface Waters by the Yeast Recombinant Assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(6):1152–1158, 2001.
- [147] B. Gemmel, B. Lorenschat und F. P. Schmitz. Separation of Oligomers of Medium Polarity by Packed Column Supercritical Fluid Chromatography. *Chromatographia*, 27(11–12):605–610, 1989.
- [148] W. Giger, P. H. Brunner und C. Schaffner. 4-Nonylphenol in Sewage Sludge: Accumulation of Toxic Metabolites from Nonionic Surfactants. *Science*, 225(4662):623–625, 1984.
- [149] W. Giger, E. Stephanou und C. Schaffner. Persistent Organic Chemicals in Sewage Effluents: I. Identifications of Nonylphenols and Nonylphenolethoxylates by Glass Capillary Gas Chromatography / Mass Spectrometry. *Chemosphere*, 10(11–12):1253–1263, 1981.
- [150] A. Giorgetti, N. Pericles, H. M. Widmer, K. Anton und P. Dätwyler. Mixed Mobile Phases and Pressure Programming in Packed and Capillary Column Supercritical Fluid Chromatography: A Unified Approach. *Journal of Chromatographic Science*, 27(6):318–324, 1989.

- [151] M. Gülden, A. Turan und H. Seibert. *Substanzen mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässer*. Texte 46 / 97. Umweltbundesamt, Berlin, 1997. Forschungsbericht 102 04 279.
- [152] K. Günther. Östrogen-aktive Nonylphenole in Lebensmitteln. *GIT Labor-Fachzeitschrift*, 46(9):960–962, 2002.
- [153] K. Günther, H.-W. Dürbeck, E. Kleist, B. Thiele, H. Prast und M. Schwuger. Endocrine Disrupting Nonylphenols – Ultra-Trace Analysis and Time-Dependent Trend in Mussels from the German Bight. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371(6):782–786, 2001.
- [154] K. Günther, V. Heinke, B. Thiele, E. Kleist, H. Prast und T. Räcker. Endocrine Disrupting Nonylphenols are Ubiquitous in Food. *Environmental Science & Technology*, 36(8):1676–1680, 2002.
- [155] K. Günther, E. Kleist und B. Thiele. Estrogen-active Nonylphenols from an Isomer-specific Viewpoint: A Systematic Numbering System and Future Trends. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 384(2):542–546, 2006.
- [156] E. González-Mazo, V. M. León, J. L. Berna und A. Gómez-Parra. Environmental Processes: Anaerobic Biodegradation of Surfactants. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 577–590. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2003.
- [157] G. Grasso und G. Bufalo. Determination of Non-Ionic Surfactants in Water and Waste Water by Atomic-Absorption Spectroscopy. *Atomic Spectroscopy*, 7(4):93–95, 1986.
- [158] J. M. Green, P. A. Brown, D. Berengut und M. G. King. Nonionic Surfactant Property Effects on Thifensulfuron Methyl Performance in Soybeans. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 525–532. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [159] M. Y. Gross-Sorokin, E. P. M. Grist und M. Cooke, M Crane. Uptake and Depuration of 4-Nonylphenol by the Benthic Invertebrate *Gammarus pulex*: How Important Is Feeding Rate? *Environmental Science & Technology*, 37(10):2236–2241, 2003.
- [160] J. L. Gundersen. Separation of Isomers of Nonylphenol and Select Nonylphenol Polyethoxylates by High-Performance Liquid Chromatography on a Graphitic Carbon Column. *Journal of Chromatography A*, 914(1–2):161–166, 2001.

- [161] R. C. Hale, C. L. Smith, P. O. de Fur, E. Harvey, E. O. Bush, M. J. La Guardia und G. G. Vadas. Nonylphenols in Sediments and Effluents Associated with Diverse Wastewater Outfalls. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(4):946–952, 2000.
- [162] W. C. Hall, J. B. Patoczka, R. J. Mirenda, B. A. Porter und E. Miller. Acute Toxicity of Industrial Surfactants to *Mysidopsis bahia*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 18(5):765–772, 1989.
- [163] U. A. Harreus, B. C. Wallner, E. R. Kastenbauer und N. H. Kleinsasser. Genotoxicity and Cytotoxicity of 4-Nonylphenol Ethoxylate on Lymphocytes as Assessed by the Comet Assay. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 82(6):395–401, 2002.
- [164] M. Hawrelak, E. Bennett und C. Metcalfe. The Environmental Fate of the Primary Degradation Products of Alkylphenol Ethoxylate Surfactants in Recycled Paper Sludge. *Chemosphere*, 39(5):745–752, 1999.
- [165] O. P. Heemken, H. Reincke, B. Stachel und N. Theobald. The Occurrence of Xenooestrogens in the Elbe River and the North Sea. *Chemosphere*, 45(3):245–259, 2001.
- [166] K. Heinig, C. Vogt und G. Werner. Separation of Ionic and Neutral Surfactants by Capillary Electrophoresis and High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 745(1–2):281–292, 1996.
- [167] K. Heinig, C. Vogt und G. Werner. Separation of Nonionic Surfactants of the Polyoxyethylene Type by Capillary Electrophoresis. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 357(6):695–700, 1997.
- [168] H. Hellmann. Abbau von Alkylphenoethoxylaten in Waschmitteln – Nachweis durch IR Spectroskopie / Dünnschicht-Chromatographie. Teil I. Analytik. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie*, 321(2):159–162, 1985.
- [169] J. M. Herrero-Martínez, M. Fernández-Martí, E. Simó-Alfonso und G. Ramis-Ramos. Determination of Alkylphenol Ethoxylates by Micellar Electrokinetic Chromatography with Bile Salts. *Electrophoresis*, 22(3):526–534, 2001.
- [170] B. J. Hoffman und L. T. Taylor. A Study of Polyethoxylated Alkylphenols by Packed Column Supercritical Fluid Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 40(2):61–68, 2002.

- [171] P. J. Holloway. Evaluation of Adjuvant Modes of Action: A Theoretical Approach. In P. J. Holloway, R. Rees und D. Stock (Hrsg.), *Ernst Schering Research Foundation Workshop 12 - Interactions Between Adjuvants, Agrochemicals and Target Organisms*, Seiten 143–148. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, 1994.
- [172] P. J. Holloway. Physicochemical Factors Influencing the Adjuvant-Enhanced Spray Deposition and Coverage of Foliage-Applied Agrochemicals. In P. J. Holloway, R. Rees und D. Stock (Hrsg.), *Ernst Schering Research Foundation Workshop 12 - Interactions Between Adjuvants, Agrochemicals and Target Organisms*, Seiten 83–106. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, 1994.
- [173] P. J. Holloway und D. Stock. Industrial Applications of Surfactants II. In D. R. Karsa (Hrsg.), *Special Publication N. 77*, Seiten 303–337. Royal Society, Cambridge, 1990.
- [174] M. S. Holt, E. H. McKerrell, J. Perry und R. J. Watkinson. Determination of Alkylphenol Ethoxylates in Environmental Samples by High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Fluorescence Detection. *Journal of Chromatography*, 362(3):419–424, 1986.
- [175] M. S. Holt, G. C. Mitchell und R. J. Watkinson. The Environmental Chemistry, Fate and Effects of Nonionic Surfactants. In N. T. de Oude (Hrsg.), *Detergents*, Band 3, Teil F: Anthropogenic Compounds von *The Handbook of Environmental Chemistry*, Seiten 89–144. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg / New York, 1992.
- [176] H.-R. Holzbauer und U. Just. Adducts by Supercritical Fluid Chromatography. *Tenside Surfactants Detergents*, 31(2):79–82, 1994.
- [177] N. A. Hosea und F. P. Güngerich. Oxidation of Nonionic Detergents by Cytochrome P450 Enzymes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 353(2):365–373, 1998.
- [178] F. Houde, C. DeBlois und D. Berryman. Liquid Chromatographic-Tandem Mass Spectrometric Determination of Nonylphenol Polyethoxylates and Nonylphenol Carboxylic Acids in Surface Water. *Journal of Chromatography A*, 961(2):245–256, 2002.
- [179] D. O. Hummel. *Analyse der Tenside: Chemische, physikalisch-chemische und physikalische Methoden*. Carl Hanser Verlag, München / Wien, 2. Auflage, 1996.
- [180] N. M. A. Ibrahim und B. B. Wheals. Determination of Alkylphenol Ethoxylate Non-Ionic Surfactants in Trade Effluents by Sublation and High-Performance Liquid Chromatography. *Analyst*, 121(2):239–242, 1996.

- [181] N. M. A. Ibrahim und B. B. Wheals. Oligomeric Separation of Alkylphenol Ethoxylate Surfactants on Silica Using Aqueous Acetonitrile Eluents. *Journal of Chromatography A*, 731(1–2):171–177, 1996.
- [182] M. Ike, M. Asano, F. D. Belkada, S. Tsunoi, M. Tanaka und M. Fujita. Degradation of Biotransformation Products of Nonylphenol Ethoxylates by Ozonation and UV/TiO₂ Treatment. *Water Science and Technology*, 46(11–12):127–132, 2002.
- [183] Industrieverband Agrar e. V. IVA (Hrsg.). *Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln: Physikalisch-chemische und toxikologische Daten*. BLV Verlagsgesellschaft mbH, München, 2. Auflage, 1990.
- [184] International Organization for Standardization ISO. *Nichtionische grenzflächenaktive Stoffe; polyethoxylierte Derivate; iodometrische Bestimmung von Oxyethylengruppen*, ISO/TC 91: Grenzflächenaktive Stoffe, August 1989. ISO 2270.
- [185] T. Isobe, H. Nishiyama, A. Nakashima und H. Takada. Distribution and Behavior of Nonylphenol, Octylphenol and Nonylphenol Monoethoxylate in Tokyo Metropolitan Area: Their Association with Aquatic Particles and Sedimentary Distributions. *Environmental Science & Technology*, 35(6):1041–1049, 2001.
- [186] B. N. Jacobsen und T. Guildal. Novel Aspects for Management of Xenobiotic Compounds in Wastewater Treatment Plants – Linking Theory, Field Studies, Regulation, Engineering, and Experience. *Water Science and Technology*, 42(7–8):315–322, 2000.
- [187] P. Jandera, J. Urbanek, B. Prokes und J. Churacek. Comparison of Various Stationary Phases for Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography of Ethoxylated Alkylphenols. *Journal of Chromatography*, 504(2):297–318, 1990.
- [188] S. Jobling und J. P. Sumpter. Detergent Components in Sewage Effluent Are Weakly Estrogenic to Fish - an In-Vitro Study Using Rainbow-Trout (*Oncorhynchus-mykiss*) Hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 27(3–4):361–372, 1993.
- [189] H. Jobst. Bestimmung von isomeren 4-Nonylphenolen in Böden. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie*, 328(8):644–647, 1987.
- [190] D. M. John und G. F. White. Mechanism for Biotransformation of Nonylphenol Polyethoxylates to Xenoestrogens in *Pseudomonas putida*. *Journal of Bacteriology*, 180(17):4332–4338, 1998.

- [191] F. W. Jones. Estimation of Flame-Ionization Detector Relative Response Factors for Oligomers of Alkyl and Aryl Ether Polyethoxylates Using the Effective Carbon Number Concept. *Journal of Chromatographic Science*, 36(5):223—226, 1998.
- [192] F. W. Jones und D. J. Westermoreland. Removal of Wool Wax, Nonylphenol Ethoxylates and Pesticide Residues from Wool Scour Effluent. *Water Research*, 33(8):1775–1780, 1999.
- [193] N. Jonkers und P. de Voogt. Occurance of Surfactants in the Environment: Non-Ionic Surfactants in Marine and Estuarine Environments. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 719–747. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2003.
- [194] N. Jonkers, T. P. Knepper und P. de Voogt. Aerobic Biodegradation Studies of Nonylphenol Ethoxylates in River Water Using Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology*, 35(2):335–340, 2001.
- [195] N. Jonkers, R. W. P. M. Laane und P. de Voogt. Fate of Nonylphenol Ethoxylates and Their Metabolites in Two Dutch Estuaries: Evidence of Biodegradation in the Field. *Environmental Science & Technology*, 37(2):321–327, 2003.
- [196] U. Just, H.-R. Holzbauer und M. Resch. Molar Mass Determination of Oligomeric Ethylene Oxide Adducts Using Supercritical Fluid Chromatography and Matrix-Assisted Laser Desorption–Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 667(1–2):354–360, 1994.
- [197] I. I. Kaduji und J. B. Stead. Determination of Polyoxyethylene in Small Amounts of Non-Ionic Detergents by Hydrogen Bromide Fission Followed by Gas Chromatography. *Analyst*, 101(1206):728—731, 1976.
- [198] T. Kamiyusuki, T. Monde, F. Nemoto, T. Konakahara und Y. Takahashi. Separation and Characterization of Octylphenol Ethoxylate Surfactants Used by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography on Branched Fluorinated Silica Gel Columns. *Journal of Chromatography A*, 852(2):475–485, 1999.
- [199] K. Kannan, T. L. Keith, C. G. Naylor, C. A. Staples, S. A. Snyder und J. P. Giesy. Nonylphenol and Nonylphenol Ethoxylates in Fish, Sediment, and Water from the Kalamazoo River, Michigan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44(1):77–82, 2003.

- [200] T. L. Keith, S. A. Snyder, C. G. Naylor, C. A. Staples, C. Summer, K. Kannan und J. P. Giesy. Identification and Quantitation of Nonylphenol Ethoxylates and Nonylphenol in Fish Tissues from Michigan. *Environmental Science & Technology*, 35(1):10–13, 2001.
- [201] J. Kelly und H. L. Greenwald. Chromatographic Separation of a Non-Ionic Polyether Surfactant. *The Journal of Physical Chemistry*, 62(9):1096–1098, 1958.
- [202] T. C. G. Kibbey, T. P. Yavaraski und K. F. Hayes. High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Polydisperse Ethoxylated Non-Ionic Surfactants in Aqueous Samples. *Journal of Chromatography A*, 752(1–2):155–165, 1996.
- [203] A. T. Kiewiet und P. de Voogt. Chromatographic Tools for Analysing and Tracking Non-Ionic Surfactants in the Aquatic Environment. *Journal of Chromatography A*, 733(1–2):185–192, 1996.
- [204] C. J. Kirk, L. Bottomley, N. Minican, H. Carpenter, S. Shaw, N. Kohli, M. Winter, E. W. Taylor, R. H. Waring, F. Michelangeli und R. A. Harris. Environmental Endocrine Disruptors Dysregulate Estrogen Metabolism and Ca^{2+} Homeostasis in Fish and Mammals Via Receptor-Independent Mechanisms. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 135(1):1–8, 2003.
- [205] R. C. Kirkwood. Use and Mode of Action of Adjuvants for Herbicides: a Review of Some Current Work. *Pesticide Science*, 38(2–3):93–102, 1993.
- [206] R. C. Kirkwood. Surfactant-Pesticide-Plant Interactions. *Biochemical Society Transactions*, 22(3):611–616, 1994.
- [207] R. C. Kirkwood. Recent Developments in Our Understanding of the Plant Cuticle as a Barrier to the Foliar Uptake of Pesticides. *Pesticide Science*, 55(1):69–77, 1999.
- [208] R. C. Kirkwood, H. Knight, I. McKay und J. P. N. R. Chandrasena. The Effect of a Range of Nonylphenol Surfactants on Cuticle Penetration, Absorption and Translocation of Water-Soluble and Non-Water-Soluble Herbicides. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 117–126. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [209] M. Kitis, C. D. Adams und G. T. Daigger. The Effects of Fenton's Reagent Pretreatment on the Biodegradability of Nonionic Surfactants. *Water Research*, 33(11):2561–2568, 1999.
- [210] M. Kitis, C. D. Adams, J. Kuzhikannil und G. T. Daigger. The Effects of Fenton's Reagent Pretreatment on the Biodegradability of Nonionic Surfactants. *Environmental Science & Technology*, 34(11):2305–2310, 2000.

- [211] T. P. Knepper und J. L. Berna. Surfactants: Properties, Production, and Environmental Aspects. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 1–49. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2003.
- [212] T. P. Knepper, P. Eichhorn und L. S. Bonnington. Environmental Processes: Aerobic Biodegradation of Surfactants. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 525–575. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2003.
- [213] T. P. Knepper, M. Petrović und P. de Voogt. Occurrence of Surfactants in the Environment: Occurrence of Surfactants in Surface Waters and Freshwater Sediments — I. Alkylphenol Ethoxylates and Their Degradation Products. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 675–693. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2003.
- [214] K. Kosswig. Surfactants. In B. Elvers, S. Hawkins und W. Russey (Hrsg.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Band A 25, Seiten 747–817. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 5. Auflage, 1994.
- [215] A. Kreißelmeier und H. W. Dürbeck. Determination of Alkylphenols, Alkylphenolethoxylates and Linear Alkylbenzenesulfonates in Sediments by Accelerated Solvent Extraction and Supercritical Fluid Extraction. *Journal of Chromatography A*, 775(1–2):187–196, 1997.
- [216] E. Kubeck und C. G. Naylor. Trace Analysis of Alkylphenol Ethoxylates. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(6):400–405, 1990.
- [217] H. M. Kuch und K. Ballschmiter. Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC-(NCI)-MS in the Picogram per Liter Range. *Environmental Science & Technology*, 35(15):3201–3206, 2001.
- [218] M. Kudoh, H. Ozawa, S. Fudano und K. Tsuji. Determination of Trace Amounts of Alcohol and Alkylphenol Ethoxylates by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorimetric Detection. *Journal of Chromatography A*, 287(2):337–344, 1984.

- [219] P. Kudsk. The Effect of Adjuvants on the Rainfastness of Thifensulfuron and Tribenuron. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 441–448. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [220] E. G. Kulapina und L. V. Apukhtina. Selective Electrodes Based on Ba²⁺-Polyethoxylate-Tetraphenyl Borate Compounds. *Journal of Analytical Chemistry (Zhurnal Analiticheskoi Khimii)*, 52(12):1151–1156, 1997.
- [221] E. Kunkel. Environmental Surfactant Analysis. *Tenside Surfactants Detergents*, 24(5):280–285, 1987.
- [222] R. Kveštak und M. Ahel. Occurrence of Toxic Metabolites from Nonionic Surfactants in the Krka River Estuary. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 28(1):25–34, 1994.
- [223] R. Kveštak, S. Terzić und M. Ahel. Input and Distribution of Alkylphenol Polyethoxylates in a Stratified Estuary. *Marine Chemistry*, 46(1–2):89–100, 1994.
- [224] M. la Farre, M. J. Garcia, M. Castillo, J. Riu und D. Barceló. Identification of Surfactant Degradation Products as Toxic Organic Compounds Present in Sewage Sludge. *Journal of Environmental Monitoring*, 3(2):232–237, 2001.
- [225] M. J. La Guardia, R. C. Hale, E. Harvey und T. M. Mainor. Alkylphenol Ethoxylate Degradation Products in Land-Applied Sewage Sludge (Biosolids). *Environmental Science & Technology*, 35(24):4798–4804, 2001.
- [226] P. A. Lara-Martín, M. Petrovic, A. Gómez-Parra, D. Barceló und E. González-Mazo. Presence of Surfactants and Their Degradation Intermediates in Sediment Cores and Grabs from the Cadiz Bay Area. *Environmental Pollution*, 144(2):483–491, 2006.
- [227] E. M. Laurenzana, G. Balasubramanian, C. Weis, B. Blaydes, R. R. Newbold und K. B. Delclos. Effect of Nonylphenol on Serum Testosterone Levels and Testicular Steroidogenic Enzyme Activity in Neonatal, Pubertal, and Adult Rats. *Chemico-Biological Interactions*, 139(1):23–41, 2002.
- [228] H.-B. Lee. Review of Analytical Methods for the Determination of Nonylphenol and Related Compounds in Environmental Samples. *Water Quality Research Journal of Canada*, 34(1):3–35, 1999.
- [229] H.-B. Lee und T. E. Peart. Determination of 4-Nonylphenol in Effluent and Sludge from Sewage-Treatment Plants. *Analytical Chemistry*, 67(13):1976–1980, 1995.

- [230] H.-B. Lee und T. E. Peart. Occurrence of Nonylphenol Ethoxylates and Their Metabolites in Canadian Pulp and Paper Mill Effluents and Sludge. *Water Quality Research Journal of Canada*, 34(4):633–652, 1999.
- [231] H.-B. Lee und T. E. Peart. Organic contaminants in Canadian Municipal Sewage Sludge. Part I. Toxic or Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds. *Water Quality Research Journal of Canada*, 37(4):681–69, 2002.
- [232] H.-B. Lee, T. E. Peart, D. T. Bennie und R. J. Maguire. Determination of Nonylphenol Polyethoxylates and Their Carboxylic Acid Metabolites in Sewage Treatment Plant Sludge by Supercritical Carbon Dioxide Extraction. *Journal of Chromatography A*, 785(1–2):385–394, 1997.
- [233] A. Leisewitz und W. Schwarz. *Stoffströme wichtiger endokrin wirksamer Industriechemikalien*. Öko-Recherche. Büro für Umweltforschung und Beratung GmbH im Auftrag des Umweltbundesamtes, Berlin, 1997. Forschungsbericht 106 01 076.
- [234] M. H. Leitch. The Influence of Adjuvant Type on the Response of Oats to the Growth Regulator Chlormequat. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 601–611. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [235] K. Levsen, W. Wagner-Redeker, K. H. Schäfer und P. Dobberstein. On-Line Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Non-Ionic Surfactants. *Journal of Chromatography*, 323(1):135–141, 1985.
- [236] M. A. Lewis. Comparison of the Effect of Surfactants on Freshwater Phytoplankton Communities in Experimental Enclosures and on Algal Population Growth in the Laboratory. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(3):319–332, 1999.
- [237] H.-Q. Li, F. Jiku und H. F. Schröder. Assessment of the Pollutant Elimination Efficiency by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and -Tandem Mass Spectrometry – Comparison of Conventional and Membrane-Assisted Biological Wastewater Treatment Processes. *Journal of Chromatography A*, 889(1–2):155–176, 2000.
- [238] S. R. Lipsky und M. L. Duffy. New Advances in Capillary Gas Chromatography. Aluminum-Clad, Fused-Silica Capillary Columns for GC at High Temperatures: GC vs. SFC for the Analysis of Certain High-Molecular-Weight Compounds. *LC GC*, 4(9):898–906, 1986.
- [239] R. Loos, G. Hanke und S. J. Eisenreich. Multi-Component Analysis of Polar Water Pollutants Using Sequential Solid-Phase Extraction Followed by LC-ESI-MS. *Journal of Environmental Monitoring*, 5(3):384–394, 2003.

- [240] R. Loos, J. Wollgast, T. Huber und G. Hanke. Polar Herbicides, Pharmaceutical Products, Perfluorooctanesulfonate (PFOS), Perfluorooctanoate (PFOA), and Nonylphenol and its Carboxylates and Ethoxylates in Surface and Tap Waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 387(4):1469–1478, 2007.
- [241] F. J. Ludwig. Analysis of Ethylene Oxide and Propylene Oxide Adducts of Alkylphenols or Alcohols by Nuclear Magnetic Resonance, Gas-Liquid Chromatography, and Thin-Layer Chromatography Procedures. *Analytical Chemistry*, 40(11):1620–1627, 1968.
- [242] C. M. Lye, C. L. J. Frid, M. E. Gill, D. W. Cooper und D. M. Jones. Estrogenic Alkylphenols in Fish Tissues, Sediments, and Waters from the UK Tyne and Tees Estuaries. *Environmental Science & Technology*, 33(7):1009–1014, 1999.
- [243] K. J. Macek und S. F. Krzeminski. Susceptibility of Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*) to Nonionic Surfactants. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 13(3):377–384, 1975.
- [244] L. G. Mackay, M. Y. Croft, D. S. Selby und R. J. Wells. Determination of Nonylphenol and Octylphenol Ethoxylates in Effluent by Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *The Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 80(2):401–407, 1997.
- [245] L. L. Madsen, B. Korsgaard und P. Bjerregaard. 4-*tert*-Octylphenol and 17 β -Estradiol Applied by Feeding to Flounder *Platichthys flesus*: Induction of Vitellogenin and Accumulation in Tissues. *Marine Environmental Research*, 54(3–5):729–733, 2002.
- [246] R. J. Maguire. Review of the Persistence of Nonylphenol and Nonylphenol Ethoxylates in Aquatic Environments. *Water Quality Research Journal of Canada*, 34(1):37–38, 1999.
- [247] H. Maki, M. Fujita und Y. Fujiwara. Identification of Final Biodegradation Product of Nonylphenol Ethoxylate (NPE) by River Microbial Konsortia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57(6):881–887, 1996.
- [248] H. Maki, N. Masuda, Y. Fujiwara, M. Ike und M. Fujita. Degradation of Alkylphenol Ethoxylates by *Pseudomonas* sp. Strain TR01. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(7):2265–2271, 1994.

- [249] R. M. Mann und M. R. Boddy. Biodegradation of a Nonylphenol Ethoxylate by the Autochthonous Microflora in Lake Water with Observations on the Influence of Light. *Chemosphere*, 41(9):1361–1369, 2000.
- [250] M. A. Manzano, J. A. Perales, D. Sales und J. M. Quiroga. The Effect of Temperature on the Biodegradation of a Nonylphenol Polyethoxylate in River Water. *Water Research*, 33(11):2593–2600, 1999.
- [251] A. Marcomini, S. Capri und W. Giger. Determination of Linear Alkylbenzenesulphonates, Alkylphenol Polyethoxylates and Nonylphenol in Waste Water by High-Performance Liquid Chromatography After Enrichment on Octadecylsilica. *Journal of Chromatography*, 403:243–252, 1987.
- [252] A. Marcomini, A. Di Corcia, R. Samperi und S. Capri. Reversed-Phase High-Performance Liquid-Chromatographic Determination of Linear Alkylbenzene Sulfonates, Nonylphenol Polyethoxylates and Their Carboxylic Biotransformation Products. *Journal of Chromatography*, 644(1):59–71, 1993.
- [253] A. Marcomini und W. Giger. Simultaneous Determination of Linear Alkylbenzenesulphonates, Alkylphenol Polyethoxylates and Nonylphenol by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 59(13):1709–1715, 1987.
- [254] A. Marcomini, B. Pavoni, A. Sfriso und A. A. Orio. Persistent Metabolites of Alkylphenol Polyethoxylates in the Marine Environment. *Marine Chemistry*, 29:307–323, 1990.
- [255] A. Marcomini, G. Pojana, L. Patrolecco und S. Capri. Determination of Non-Ionic Aliphatic and Aromatic Polyethoxylated Surfactants in Environmental Aqueous Samples. *Analisis*, 26(2):64–69, 1998.
- [256] A. Marcomini, G. Pojana, A. Sfriso und J. M. Q. Alonso. Behavior of Anionic and Nonionic Surfactants and Their Persistent Metabolites in the Venice Lagoon, Italy. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 19(8):2000–2007, 2000.
- [257] A. Marcomini, S. Stelluto und B. Pavoni. Determination of Linear Alkylbenzenesulphonates and Alkylphenol Polyethoxylates in Commercial Products and Marine Waters by Reversed- and Normal-Phase HPLC. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 35(4):207–218, 1989.
- [258] A. Marcomini, C. Tortato, S. Capri und A. Liberatori. Preparation, Characterization and RP-HPLC Determination of Sulfophenyl and Nonylphenoxy Carboxylates. *Annali di Chimica*, 83(11–12):461–484, 1993.

- [259] N. Markuzina, O. K. Stefanova, E. V. Griбанova und S. B. Mokrov. Barium-Selective Membranes Based on Neutral Complexones: Specific Features of Functioning Related to Surface Activity of Complexone. *Russian Journal of Applied Chemistry (Zhurnal Prikladnoi Khimii)*, 72(1):85–89, 1999.
- [260] N. Markuzina, O. K. Stefanova und S. B. Mokrov. Barium-Selective Membranes Based on Neutral Dependence of the Membrane Potential on Content of Solution. *Russian Journal of Applied Chemistry (Zhurnal Prikladnoi Khimii)*, 72(1):90–94, 1999.
- [261] N. Marquez, R. E. Anton, A. Usabillaga und J. L. Salager. Optimization of HPLC Conditions to Analyse Widely Distributed Ethoxylated Alkylphenol Surfactants. *Journal of Liquid Chromatography*, 17(5):1147–1169, 1994.
- [262] N. Marquez, B. Bravo, G. Chavez, F. Ysambertt und J. L. Salager. Analysis of Polyethoxylated Surfactants in Microemulsion-Oil-Water Systems. *Analytica Chimica Acta*, 405(1–2):267–275, 2000.
- [263] N. Marquez, N. Subero, R. E. Anton, J. Lachaise, A. Graciaa und J. L. Salager. Effect of Alkylate Isomerism upon Surfactant Retention in an HPLC Column and Partitioning between Water and Oil. *Separation Science and Technology*, 32(6):1087–1098, 1997.
- [264] S. Martínez-Barrachina, J. Alonso, L. Matia, R. Prats und M. del Valle. All-Solid-State Potentiometric Sensors Sensitive to Nonionic Surfactants Based on Ionophores Containing Ethoxylate Units. *Talanta*, 54(5):811–820, 2001.
- [265] S. Martínez-Barrachina, M. del Valle, L. Matia, R. Prats und J. Alonso. Potentiometric Flow Injection System for the Determination of Polyethoxylate Nonionic Surfactants Using Tubular Ion-Selective Electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 438(1–2):305–313, 2001.
- [266] S. Martínez-Barrachina, M. del Valle, L. Matia, R. Prats und J. Alonso. Determination of Polyethoxylated Non-Ionic Surfactants Using Potentiometric Flow-Injection Systems. Improvement of the Detection Limits Employing an Online Preconcentration Stage. *Analytica Chimica Acta*, 454(2):217–227, 2002.
- [267] K. Maruyama, M. Yuan und A. Otsuki. Seasonal Changes in Ethylene Oxide Chain Length of Poly(oxyethylene)alkylphenyl Ether Nonionic Surfactants in Three Main Rivers in Tokyo. *Environmental Science & Technology*, 34(2):343–348, 2000.

- [268] K. Matsumoto, S. Tsuge und Y. Hirata. Analysis of Nonionic Surface Active Agents by Supercritical Fluid Chromatography/Mass Spectrometry. *Shitsuryo Bunseki*, 35(1):15–22, 1987.
- [269] T. Matsunaga, F. Ueki, K. Obata, H. Tajima, T. Tanaka, H. Takeyama, Y. Goda und S. Fujimoto. Fully Automated Immunoassay System of Endocrine Disrupting Chemicals Using Monoclonal Antibodies Chemically Conjugated to Bacterial Magnetic Particles. *Analytica Chimica Acta*, 475(1–2):75–83, 2003.
- [270] D. W. McLeese, V. Zitko, D. B. Sergeant, L. Burrige und C. D. Metcalfe. Lethality and Accumulation of Alkylphenols in Aquatic Fauna. *Chemosphere*, 10(7):723–730, 1981.
- [271] S. Meisen, T. Tang und K. Günther. *Bestimmung von östrogenaktiven Nonylphenolen in Biofilmen*. Posterbeitrag auf der Analytikerfachtagung ANAKON, Jena, 2007.
- [272] G. Meszlényi, J. Körtvélyessy, É. Juhász und M. Erös-Lelkes. Relationships Between the Structure of Alkylphenol-Polyethyleneglycol Ether Tensides and Their Ultraviolet Spectroscopical Properties. *Periodica polytechnica / Chemical Engineering*, 30(3–4):171–175, 1986.
- [273] M. Mingazzini, S. Polesello, S. Galassi und L. Guzzella. Role of Nonylphenol Ethoxylates as Possible Tracers of Recent Industrial Contamination of River Sediments. *Fresenius Environmental Bulletin*, 11(10a):795–799, 2002.
- [274] W. Miskiewicz, W. Hreczuch, A. Sobczynska und J. Szymanowski. Estimation of Polyoxyethylene Chain Distribution of Alcohol and Alkylphenol Ethoxylates. In *Chromatographia* [274], Seiten 95–100.
- [275] J. Moeller und U. Reeh. Degradation of Nonylphenol Ethoxylates (NPE) in Sewage Sludge and Source Separated Municipal Solid Waste Under Bench-Scale Composting Conditions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(2):248–254, 2003.
- [276] J. Montgomery-Brown, J. E. Drewes, P. Fox und M. Reinhard. Behavior of Alkylphenol Polyethoxylates Metabolites During Soil Aquifer Treatment. *Water Research*, 37(15):3672–3681, 2003.
- [277] H. Moriwaki, T. Nakano, S. Tsunoi und M. Tanaka. Detection of 1:1 and 2:1 Complexes of Nonylphenol Ethoxylates with Alkali-Metal Cations by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15(22):2208–2210, 2001.

- [278] C. G. Naylor. Environmental Fate and Safety of Nonylphenol Ethoxylates. *Textile Chemist and Colorist*, 27(4):29–33, 1995.
- [279] C. G. Naylor, J. P. Mieure, W. J. Adams, J. A. Weeks, F. J. castaldi, L. D. Ogle und R. R. Romano. Alkylphenol Ethoxylates in the Environment. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(7):695–703, 1992.
- [280] V. Nemeth-Kiss. Separation of Ethoxylated Tributylphenol Oligomers on Porous Graphitic Carbon Column. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 19(2):217–229, 1996.
- [281] M. H. Nguyen und J. C. Sigoillot. Isolation from Coastal Sea Water and Characterization of Bacterial Strains Involved in Non-Ionic Surfactant Degradation. *Biodegradation*, 7(5):369–375, 1997.
- [282] S. Onodera, M. Takahashi und S. Suzuki. Chemical Changes of Organic Compounds in Chlorinated Water. 19. Production of Alkylpolychlorinated Phenoxyphenols (Predioxins) by Aqueous Chlorination of Alkylphenols. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*, 39(1):20–28, 1993.
- [283] A. Otsuki und H. Shiraishi. Determination of Poly(oxyethylene)alkylphenyl Ether Nonionic Surfactants in Water at Trace Levels by Reversed Phase Adsorption Liquid Chromatography and Field Desorption Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 51(14):2329–2332, 1979.
- [284] PARCOM. Recommendation 92/8 on Nonylphenol-ethoxylates. Paris, 1992.
- [285] L. Patrolecco, S. Capri, S. de Angelis, R. Pagnotta, S. Polesello und S. Valsecchi. Partition of Nonylphenol and Related Compounds Among Different Aquatic Compartments in Tiber River (Central Italy). *Water, Air, and Soil Pollution*, 30(1–4):151–166, 1996.
- [286] S. Pattanaargsorn, P. Sangvanich, A. Petsom und S. Roengsumran. Determination of Oligomer Distribution of Alkylphenol Polyethoxylates and Fatty Alcohol Polyethoxylates by Positive-ion Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Analyst*, 120(5):1573–1576, 1995.
- [287] N. Paxéus. Organic Pollutants in the Effluents of Large Wastewater Treatment Plants in Sweden. *Water Research*, 30(5):1115–1122, 1996.
- [288] S. N. Pedersen und C. Lindholst. Quantification of the Xenoestrogens 4-tert.-Octylphenol and Bisphenol A in Water and in Fish Tissue Based on Microwa-

- ve Assisted Extraction, Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 864(1):17–24, 1999.
- [289] Petroquímica Española Petresa. Cadiz, Spain, 2000. Internal Report.
- [290] M. Petrović und D. Barceló. Determination of Anionic and Nonionic Surfactants, Their Degradation Products, and Endocrine-Disrupting Compounds in Sewage Sludge by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 72(19):4560–4567, 2000.
- [291] M. Petrović und D. Barceló. The Stability of Non-Ionic Surfactants and Linear Alkylbenzene Sulfonates in a Water Matrix and on Solid-Phase Extraction Cartridges. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 368(7):676–683, 2000.
- [292] M. Petrović und D. Barceló. Analysis of Ethoxylated Nonionic Surfactants and Their Metabolites by Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 36(11):1173–1185, 2001.
- [293] M. Petrović und D. Barceló. Determination of Phenolic Xenoestrogens in Environmental Samples by Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection. *Journal of AOAC International*, 84(4):1074–1085, 2001.
- [294] M. Petrović und D. Barceló. Review of Advanced Sample Preparation Methods for the Determination of Alkylphenol Ethoxylates and Their Degradation Products in Solid Environmental Matrices. *Chromatographia*, 959(9–10):535–544, 2002.
- [295] M. Petrović und D. Barceló. Occurrence of Surfactants in the Environment: Concentrations of Surfactants in Wastewater Treatment Plants. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 655–673. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 2003.
- [296] M. Petrović und D. Barceló. Fate and Removal of Surfactants and Related Compounds in Wastewaters and Sludges. In D. Barceló (Hrsg.), *Emerging Organic Pollutants in Waste Waters and Sludge*, Band 5, Teil 1 von *The Handbook of Environmental Chemistry*, Seiten 1–28. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg / New York, 2004.
- [297] M. Petrović, D. Barceló, A. Diaz und F. Ventura. Low Nanogram Per Liter Determination of Halogenated Nonylphenols, Nonylphenol Carboxylates, and Their Non-Halogenated Precursors in Water and Sludge by Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of American Society of Mass Spectrometry*, 14(5):516–527, 2003.

- [298] M. Petrović, A. Diaz, F. Ventura und D. Barceló. Simultaneous Determination of Halogenated Derivatives of Alkylphenol Ethoxylates and Their Metabolites in Sludges, River Sediments, and Surface, Drinking, and Wastewaters by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 73(24):5886–5895, 2001.
- [299] M. Petrović, E. Eljarrat, M. J. López de Alda und D. Barceló. Recent Advances in the Mass Spectrometric Analysis Related to Endocrine Disrupting Compounds in Aquatic Environmental Samples. *Journal of Chromatography A*, 974(1–2):23–51, 2002.
- [300] M. Petrović, A. R. Fernandez-Alba, F. Borrull, R. M. Marce, E. G. Mazo und D. Barceló. Occurrence and Distribution of Nonionic Surfactants, Their Degradation Products, and Linear Alkylbenzene Sulfonates in Coastal Waters and Sediments in Spain. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 21(1):37–46, 2002.
- [301] M. Petrović, E. Gonzalez-Mazo, P. de Voogt und D. Barceló. Separation and Detection: LC Determination Using Conventional Detectors. In T. P. Knepper und P. Barceló, D und de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 89—113. Elsevier Science B.V., 2003.
- [302] M. Petrović, S. Lacorte, P. Viana und D. Barceló. Pressurized Liquid Extraction Followed by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry for the Determination of Alkylphenolic Compounds in River Sediment. *Journal of Chromatography A*, 959(1–2):15–23, 2002.
- [303] M. Petrović, M. Solé, M. J. López de Alda und D. Barceló. Endocrine Disruptors in Sewage Treatment Plants, Receiving River Waters, and Sediments: Integration of Chemical Analysis and Biological Effects on Feral Carp. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(10):2146–2156, 2002.
- [304] C. Planas, J. M. Guadayol, M. Droguet, A. Escalas, J. Rivera und J. Caixach. Degradation of Polyethoxylated Nonylphenols in a Sewage Treatment Plant. Quantitative Analysis by Isotopic Dilution-HRGC/MS. *Water Research*, 36(4):982–988, 2002.
- [305] M. R. Porter. *Handbook of Surfactants*. Blackie & Son, Glasgow / London, 1991.
- [306] T. L. Potter, K. Simmons, J. Wu, M. Sanchez-Olvera, P. Kostecki und E. Calabrese. Static Die-away of a Nonylphenol Ethoxylate Surfactant in Estuarine Water Samples. *Environmental Science and Technology*, 33(1):113–118, 1999.

- [307] H. W. B. Reed. Alkylphenols. In H. Mark, D. Othmer, C. Overberger, G. Seaborg, M. Grayson und D. Eckroth (Hrsg.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Band 2, Seiten 72–96. John Wiley & Sons, New York / Chichester / Brisbane / Toronto, 3. Auflage, 1978.
- [308] J. P. Reed, F. R. Hall und S. K. Rick. Influence of Temperature and Relative Humidity on the Performance of Thifensulfuron with Various Surfactants. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 255–260. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [309] M. Reinhard, J. Montgomery-Brown, J. S. Louie und B. Gross. From Effluent to New Water: Performance Evaluation and Quality Assurance. *Chimia*, 57(9):561–566, 2003.
- [310] T. Rodgers-Gray, S. Jobling, S. Morris, C. Kelly, S. Kirby, A. Janbakhsh, J. E. Harries, M. J. Waldock, J. P. Sumpter und C. R. Tyler. Long-Term Temporal Changes in the Estrogenic Composition of Treated Sewage Effluent and Its Biological Effect on Fish. *Environmental Science & Technology*, 34(8):1521–1528, 2000.
- [311] A. Rose, C. Nistor, J. Emnéus, D. Pfeiffer und U. Wollenberger. GDH Biosensor Based Off-Line Capillary Immunoassay for Alkylphenols and Their Ethoxylates. *Biosensors & Bioelectronics*, 17(11–12):1033–1043, 2002.
- [312] A. M. Rothman. High-Performance Liquid Chromatographic Method for Determining Ethoxymmer Distribution of Alkylphenoxy Polyoxyethylene Surfactants. *Journal of Chromatography*, 253:283–288, 1982.
- [313] P. Sandra und F. David. Microcolumn Chromatography for the Analysis of Detergents and Lubricants, Part 1: High Temperature Capillary Gas Chromatography (HT-CGC) and Capillary Supercritical Fluid Chromatography (CSFC). *Journal of High Resolution Chromatography*, 13(6):414–417, 1990.
- [314] E. Santacesaria, M. Di Serio, L. Lisi und D. Gelosa. Kinetics of Nonylphenol Polyethoxylation Catalyzed by Potassium Hydroxide. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 29(5):719–725, 1990.
- [315] Sasol Germany GmbH. Produktinformation für die Produktgruppe Marlophen NP, Januar 1998.
- [316] H. Sato. Biodegradation Mechanisms of Pesticide Adjuvants Studied by Mass Spectrometry. *Journal of Pesticide Science*, 27(1):81–83, 2002.

- [317] H. Sato, A. Shibata, Y. Wang, H. Yoshikawa und H. Tamura. Characterization of Biodegradation Intermediates of Non-Ionic Surfactants by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry. 1. Bacterial Biodegradation of Octylphenol Polyethoxylate under Aerobic Conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 74(1):69–75, 2001.
- [318] H. Sato, A. Shibata, Y. Wang, H. Yoshikawa und H. Tamura. Characterization of Biodegradation Intermediates of Nonionic Surfactants by MALDI-MS. 2. Oxidative Biodegradation Profiles of Uniform Octylphenol Polyethoxylate in ^{18}O -Labeled Water. *Biomacromolecules*, 4(1):46–51, 2003.
- [319] M. J. Scarlett, J. A. Fisher, H. Zhang und M. Ronan. Determination of Dissolved Nonylphenol Ethoxylate Surfactants in Waste Waters by Gas Stripping and Isocratic High-Performance Liquid Chromatography. *Water Research*, 28(10):2109–2116, 1994.
- [320] T. M. Schmitt. *Analysis of Surfactants*, Band 96 von *Surfactant Science Series*. Marcel Dekker, New York / Basel, 2. Auflage, 2001.
- [321] K. Schneider, E und Levsen. Verfolgung des biologischen Abbaus von Tensiden mit Hilfe der Felddesorptionsmassenspektrometrie. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie*, 326(1):43–48, 1987.
- [322] J. Schönherr und H. Bauer. Analysis of Effects of Surfactants on Permeability of Plant Cuticles. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 17–35. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [323] R. H. Schreuder und A. Martijn. Determination of Dodecylbenzenesulphonates and Ethoxylated Alkylphenols in Liquid Pesticide Formulations by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography*, 435(1):73–82, 1988.
- [324] H. F. Schroder. Tracing of Surfactants in the Biological Wastewater Treatment Process and the Identification of Their Metabolites by Flow Injection Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 926(1):127–150, 2001.
- [325] S. D. Scullion, M. R. Clench, M. Cooke und A. E. Ashcroft. Determination of Surfactants in Surface Water by Solid-Phase Extraction, Liquid Chromatography and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 733(1–2):207–216, 1996.

- [326] M. Sekela, R. Brewer, G. Moyle und T. Tuominen. Occurrence of an Environmental Estrogen (4-Nonylphenol) in Sewage Treatment Plant Effluent and the Aquatic Receiving Environment. *Water Science and Technology*, 39(10–11):217–220, 1999.
- [327] M. R. Servos. Review of the Aquatic Toxicity, Estrogenic Responses and Bioaccumulation of Alkylphenols and Alkylphenol Polyethoxylates. *Water Quality Research Journal of Canada*, 34(1):123–177, 1999.
- [328] S. M. Servos, R. J. Maguire, D. T. Bennie, H.-B. Lee, P. M. Cureton, N. Davidson, R. Sutcliffe und D. F. K. Rawn. *Nonylphenol and its Ethoxylates*. Environment Canada, Burlington, 2001. Supporting Document 00-029 of the National Water Research Institute.
- [329] N. Shachat und H. L. Greenwald. Mechanism of Ethylene Oxide Condensation. In M. J. Schick (Hrsg.), *Nonionic Surfactants*, Band 1 von *Surfactant Science Series*. Marcel Dekker, New York, 1966.
- [330] D. Y. Shang, M. G. Ikonoumou und R. W. Macdonald. Quantitative Determination of Nonylphenol Polyethoxylate Surfactants in Marine Sediment Using Normal-Phase Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 849(2):467–482, 1999.
- [331] D. Y. Shang, R. W. MacDonald und M. G. Ikonoumou. Persistence of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants and Their Primary Degradation Products in Sediments from near a Municipal Outfall in the Strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Environmental Science & Technology*, 33(9):1366–1372, 1999.
- [332] B. Shao, J.-Y. Hu und M. Yang. Determination of Nonylphenol Ethoxylates in the Aquatic Environment by Normal Phase Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 950(1–2):167–174, 2002.
- [333] D. A. Sheahan, G. C. Brighty, M. Daniel, S. Jobling, J. E. Harries, M. R. Hurst, J. Kennedy, S. J. Kirby, S. Morris, E. J. Routledge, J. P. Sumpter und M. J. Waldock. Reduction in the Estrogenic Activity of a Treated Sewage Effluent Discharge to an English River as a Result of a Decrease in the Concentration of Industrially Derived Surfactants. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 21(3):515–519, 2002.
- [334] D. A. Sheahan, G. C. Brighty, M. Daniel, S. J. Kirby, M. R. Hurst, J. Kennedy, S. Morris, E. J. Routledge, J. P. Sumpter und M. J. Waldock. Oestrogenic Activity Measured in a Sewage Treatment Works Treating Industrial Inputs Containing High Concentrations of Alkylphenolic Compounds – A Case Study. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 21(3):507–514, 2002.

- [335] L. S. Sheldon und R. A. Hites. Sources and Movement of Organic Chemicals in the Delaware River. *Environmental Science & Technology*, 13(5):574–579, 1979.
- [336] K. B. Sherrard, P. J. Marriott, R. G. Amiet, M. J. McCormick, R. Colton und K. Millington. Spectroscopic Analysis of Heterogeneous Photocatalysis Products of Nonylphenol and Primary Alcohol Ethoxylate Non-Ionic Surfactants. *Chemosphere*, 33(10):1921–1940, 1996.
- [337] K. B. Sherrard, P. J. Marriott, M. J. McCormick, R. Colton und G. Smith. Electrospray Mass-Spectrometric Analysis and Photocatalytic Degradation of Polyethoxylate Surfactants Used in Wool Scouring. *Analytical Chemistry*, 66(20):3394–3399, 1994.
- [338] S. Siggia, A. C. Starke, J. J. Garis, Jr. und C. R. Stahl. Determination of Oxyalkylene Groups – In Glycols and Glycol and Polyglycol Ethers and Esters. *Analytical Chemistry*, 30(1):115–116, 1958.
- [339] D. Silcox und P. J. Holloway. Foliar Absorption of Some Nonionic Surfactants from Aqueous Solutions in the Absence and Presence of Pesticidal Active Ingredients. In P. N. P. Chow, C. A. Grant, A. M. Hinshelwood und E. Simundsson (Hrsg.), *Adjuvants and Agrochemicals*, Band 1, Seiten 115–128. CRC Press, Boca Raton, 1989.
- [340] B. B. Sithole und L. H. Allen. Determination of Non-Ionic Nonylphenol Ethoxylate Surfactants in Pulp and Paper Mill Process Samples by Spectrophotometry and Liquid Chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 72(2):273–276, 1989.
- [341] E. Smith, I. Ridgway und M. Coffey. The Determination of Alkylphenols in Aqueous Samples from the Forth Estuary by SPE-HPLC-Fluorescence. *Journal of Environmental Monitoring*, 3(6):616–620, 2001.
- [342] R. M. Smith und M. Dawson. Determination of Trace Amounts of Poly(ethylene Glycol) by Hydrogen Bromide Fission and Gas Chromatography with Electron-Capture Detection. *Analyst*, 105(1246):85–89, 1980.
- [343] L. R. Snyder. Classification of the Solvent Properties of Common Liquids. *Journal of Chromatographic Science*, 16(6):223–234, 1978.
- [344] L. R. Snyder, J. L. Glajch und J. J. Kirkland. *Practical HPLC Development*. Wiley-VCH Verlag, 1988.

- [345] S. A. Snyder, T. L. Keith, C. G. Naylor, C. A. Staples und J. P. Giesy. Identification and Quantitation Method for Nonylphenol and Lower Oligomer Nonylphenol Ethoxylates in Fish Tissues. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(9):1870–1873, 2001.
- [346] S. A. Snyder, T. L. Keith, D. A. Verbrugge, E. M. Snyder, T. S. Gross, K. Kannan und J. P. Giesy. Analytical Methods for Detection of Selected Estrogenic Compounds in Aqueous Mixtures. *Environmental Science & Technology*, 33(16):2814–2820, 1999.
- [347] S. A. Snyder, D. L. Villeneuve, E. M. Snyder und J. P. Giesy. Identification and Quantification of Oestrogen Receptor Agonists in Wastewater Effluents. *Environmental Science & Technology*, 35(18):3620–3625, 2001.
- [348] M. Solé, M. J. López de Alda, M. Castillo, C. Porte, K. Ladegaard-Pedersen und D. Barceló. Oestrogenicity Determination in Sewage Treatment Plants and Surface Waters from the Catalanian Area (NE Spain). *Environmental Science & Technology*, 34(24):5076–5083, 2000.
- [349] H. Stache und K. Kosswig. *Tensid-Taschenbuch*. Carl Hanser Verlag, München / Wien, 3. Auflage, 1990.
- [350] B. Stachel, U. Ehrhorn, O.-P. Heemken, P. Lepom, H. Reincke, G. Sawal und N. Theobald. Xenoestrogens in the River Elbe and its Tributaries. *Environmental Pollution*, 124(3):497–507, 2003.
- [351] C. A. Staples, J. Weeks, J. F. Hall und C. G. Naylor. Evaluation of Aquatic Toxicity and Bioaccumulation of C8- and C9-Alkylphenol Ethoxylates. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 17(12):2470–2480, 1998.
- [352] C. A. Staples, J. B. Williams, R. L. Blessing und P. T. Varineau. Measuring the Biodegradability of Nonylphenol Ether Carboxylates, Octylphenol Ether Carboxylates, and Nonylphenol. *Chemosphere*, 38(9):2029–2039, 1999.
- [353] E. Stephanou. Environmental Determination of Alkylphenol Polyethoxylate Refractory Residues Using Mass Spectrometric Techniques. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 20(1–2):41–54, 1985.
- [354] E. Stephanou. Determination of Acidic and Neutral Residues of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants Using GC/MS Analysis of Their TMS Derivatives. In A. Bjørseth und G. Angeletti (Hrsg.), *Proceedings of the 4th European Symposium on Organic Micropollutants in the Aquatic Environment*, Organic Micropollutants

- in the Aquatic Environment, Seiten 155–161, Reidel, Dordrecht, Niederlande, 1986. Commission of the European Communities, EUR 10388.
- [355] E. Stephanou und W. Giger. Persistent Organic Chemicals in Sewage Effluents. II. Quantitative Determinations of Nonylphenols and Nonylphenol Ethoxylates by Glass-Capillary Gas Chromatography. *Environmental Science & Technology*, 16(11):800–805, 1982.
- [356] W. H. Stickle. The Importance of Adjuvants to the Agricultural Chemical Industry. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 247–249. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [357] D. Stock und L. E. Davies. Foliar Penetration of Agrochemicals: Limitations Imposed by Formulation Type and Some Interactions with Adjuvants. In P. J. Holloway, R. Rees und D. Stock (Hrsg.), *Ernst Schering Research Foundation Workshop 12 - Interactions Between Adjuvants, Agrochemicals and Target Organisms*, Seiten 27–52. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, 1994.
- [358] D. Stock und P. J. Holloway. Possible Mechanisms for Surfactant-Induced Foliar Uptake of Agrochemicals. *Pesticide Science*, 38(2–3):165–177, 1993.
- [359] J. C. Streibig und P. Kudsk. The Influence of Adjuvants on Herbicidal Activity of Alloxydim-Sodium, Fluazifop-Butyl, and Tribenuron. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 513–523. CRC Press, Boca Raton, 1992.
- [360] F. Stuer-Lauridsen und J. Kjølholt. Identification of Selected Hydrophobic Organic Contaminants in Waste Water with Semipermeable Membrane Devices (SPMDS). *Water Research*, 34(13):3478–3482, 2000.
- [361] N. Subero, R. Bauza, A. Caceres, F. Ysambertt und N. Marquez. Partition Isotherms and HPLC Analysis of Ethoxylated Alkylphenol Surfactant Mixtures. *Ciencia (Maracaibo)*, 6(3):200–209, 1998.
- [362] C. Sun und M. Baird. The Determination of Alkyl Phenol Ethoxylates in Wool-Scouring Effluent. *The Journal of the Textile Institute*, 89(4):677–685, 1998.
- [363] C. Sun, M. Baird, H. A. Anderson und D. L. Brydon. Separation of broadly distributed nonylphenol ethoxylates and determination of ethylene oxide oligomers in textile lubricants and emulsions by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 731(1–2):161–169, 1996.

- [364] K. M. S. Sundaram. Liquid Chromatographic Method for the Determination of Nonylphenol Surfactant Present in the Commercial and Spray Formulations of Aminocarb (Matacil) Insecticide. *Journal of Liquid Chromatography*, 18(9):1787–1799, 1995.
- [365] J. Szymanowski, H. Szewczyk und Hetper. Products Obtained in the First Stages of the Ethoxylation of Alkylphenols. *Tenside Detergents*, 18(6):333—338, 1981.
- [366] J. Szymanowski, A. Völkel und H. Szewczyk. Increments of the Arithmetic Retention Index for Non-Ionic Surfactants with a Polyoxyethylene Chain. *Journal of Chromatography*, 360:43–52, 1986.
- [367] A. Tabata, S. Kashiwada, Y. Ohnishi, H. Ishikawa, N. Miyamoto, M. Itoh und Y. Magara. Estrogenic Influences of Estradiol-17 β , p-Nonylphenol and Bis-phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at Detected Environmental Concentrations. *Water Science & Technology*, 43(2):109–116, 2001.
- [368] T. F. Tadros. *Surfactants in Agrochemicals*, Band 54 von *Surfactant Science Series*. Marcel Dekker, New York, 1987.
- [369] T. Takasu, A. Iles und K. Hasebe. Determination of Alkylphenols and Alkylphenol Polyethoxylates by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography and Solid-Phase Extraction. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 372(4):554–561, 2002.
- [370] T. Takeuchi, T. Niwa und D. Ishii. Retention Behaviour in Liquid and Supercritical Fluid Chromatography Using Methanol or Diethyl Ether as Mobile Phase. *Chromatographia*, 23(12):929–933, 1987.
- [371] M. Takino, S. Daishima und K. Yamaguchi. Determination of Nonylphenol Ethoxylate Oligomers by Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry in River Water and Non-Ionic Surfactants. *Journal of Chromatography A*, 904(1):65–72, 2000.
- [372] S. S. Talmage. *Environmental and Human Safety of Major Surfactants: Alcohol Ethoxylates and Alkylphenol Ethoxylates*. A Report to the Soap and Detergent Association, 1994.
- [373] S. Tan und G. D. Crabtree. Relationship of Chemical Classification and Hydrophilic-Lipophilic Balance of Surfactants to Upper Leaf-Surface Penetration of Growth Regulators in Apples. In C. L. Foy (Hrsg.), *Adjuvants for Agrichemicals*, Seiten 561–566. CRC Press, Boca Raton, 1992.

- [374] T. Tanghe, G. Devriese und W. Verstraete. Nonylphenol and Estrogenic Activity in Aquatic Environmental Samples. *Journal of Environmental Quality*, 28(2):702–709, 1999.
- [375] M. C. TenEyck und T. P. Markee. Toxicity of Nonylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate, and Nonylphenol Diethoxylate and Mixtures of these Compounds to *Pimephales promelas* (Fathead Minnow) and *Ceriodaphnia dubia*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 53(4):599–606, 2007.
- [376] B. Thiele, K. Günther und M. J. Schwuger. Alkylphenol Ethoxylates: Trace Analysis and Environmental Behavior. *Chemical Reviews*, 97(8):3247–3272, 1997.
- [377] K. V. Thomas, J. E. Thain und M. J. Waldock. Identification of Toxic Substances in United Kingdom Estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(3):401–411, 1999.
- [378] J. R. Todorov, A. A. Elskus, D. Schlenk, P. L. Ferguson, B. J. Brownawell und A. E. McElroy. Estrogenic Responses of Larval Sunshine Bass (*Morone saxatilis* x *M-Chrysops*) Exposed to New York City Sewage Effluent. *Marine Environmental Research*, 54(3–5):691–695, 2002.
- [379] E. Topp und A. Starratt. Rapid Mineralization of the Endocrine-Disrupting Chemical 4-Nonylphenol in Soil. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 19(2):313–318, 2000.
- [380] T. Tsuda, K. Suga, E. Kanead und M. Ohsuga. Determination of 4-Nonylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate, Nonylphenol Diethoxylate and Other Alkylphenols in Fish and Shellfish by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Journal of Chromatography B*, 746(2):305–309, 2000.
- [381] T. Tsuda, K. Suga, E. Kaneda und M. Ohsuga. 4-Nonylphenol, 4-Nonylphenol Mono- and Diethoxylates, and Other 4-Alkylphenols in Water and Shellfish from Rivers Flowing into Lake Biwa. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 68(1):126–131, 2002.
- [382] T. Tsuda, A. Takino, M. Kojima, H. Harada, K. Muraki und M. Tsuji. 4-Nonylphenols and 4-tert-Octylphenol in Water and Fish from Rivers Flowing into Lake Biwa. *Chemosphere*, 41(5):757–762, 2000.
- [383] T. Tsuda, A. Takino, M. Kojima, H. Harada, K. Muraki und M. Tsuji. Evaluation of 4-Nonylphenols and 4-tert-Octylphenol Contamination of Fish in Rivers by Laboratory Accumulation and Excretion Experiments. *Water Research*, 35(7):1786–1792, 2001.

- [384] M. Valls, J. M. Bayona und Albaigés. Broad Spectrum Analysis of Ionic and Non-Ionic Organic Contaminants in Urban Wastewaters and Coastal Receiving Aquatic Systems. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 39(4):329–348, 1990.
- [385] S. Valsecchi, S. Polesello und S. Cavalli. Recovery of 4-Nonylphenol and 4-Nonylphenol Ethoxylates from River Sediments by Pressurised Liquid Extraction. *Journal of Chromatography A*, 925(1–2):297–301, 2001.
- [386] F. P. B. van der Maeden, M. E. F. Biemond und P. C. G. M. Janssen. Oligomer Separations by Gradient Elution High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography*, 149:539–552, 1978.
- [387] D. A. Van Ry, J. Dachs, C. L. Gigliotti, P. A. Brunciak, E. D. Nelson und S. J. Eisenreich. Atmospheric Seasonal Trends and Environmental Fate of Alkylphenols in the Lower Hudson River Estuary. *Environmental Science & Technology*, 34(12):2410–2417, 2000.
- [388] R. Vazquez-Duhalt, F. Marquez-Rocha, E. Ponce, A. F. Licea und M. T. Viana. Nonylphenol, An Integrated Review of a Pollutant. *Applied Ecology and Environmental Research*, 4(1):1–25, 2005.
- [389] G. D. Veith und L. M. Kiwus. An Exhaustive Steam-Distillation and Solvent-Extraction Unit for Pesticides and Industrial Chemicals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 17(6):631–636, 1977.
- [390] F. Ventura, J. Caixach, A. Figueras, I. Espalder, D. Fraisse und J. Rivera. Identification of Surfactants in Water by FAB Mass Spectrometry. *Water Research*, 23(9):1191–1203, 1989.
- [391] F. Ventura und P. de Voogt. Separation and detection: GC and GC-MS determination of surfactants. In T. P. Knepper, D. Barceló und P. de Voogt (Hrsg.), *Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment*, Band XL von *Wilson & Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry*, Seiten 51–76. Elsevier Science B.V., Amsterdam, 2003.
- [392] F. Ventura, D. Fraisse, J. Caixach und J. Rivera. Identification of [(Alkyl-oxo)polyethoxy]carboxylates in Raw and Drinking Water by Mass Spectrometry/Mass Spectrometry and Mass Determination Using Fast-Atom-Bombardment and Non-Ionic Surfactants as Internal Standards. *Analytical Chemistry*, 63(19):2095–2099, 1991.

- [393] C. Vogt und K. Heinig. Surfactant Analysis by Capillary Electrophoresis. *Tenside Surfactants Detergents*, 35(6):470–475, 1998.
- [394] C. Wahlberg, L. Renberg und U. Wideqvist. Determination of Nonylphenol and Nonylphenol Ethoxylates [Polyoxyethylene Glycol Nonylphenyl Esters] as Their Pentafluorobenzoates in Water, Sewage Sludge and Biota. *Chemosphere*, 20(1–2):179–195, 1990.
- [395] R. A. Wallingford. Oligomeric Separation of Ionic and Non-Ionic Ethoxylated Polymers by Capillary Gel Electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 68(15):2541–2548, 1996.
- [396] Z. Wang und M. Fingas. Analysis of Polyethoxylated Nonylphenols by Supercritical-Fluid Chromatography and High-Performance Liquid-Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 31(12):509–518, 1993.
- [397] Z. Wang und M. Fingas. Quantitative Analysis of Polyethoxylated Octylphenol by Capillary Supercritical Fluid Chromatography. *Journal of Chromatography*, 641(1):125–136, 1993.
- [398] Z. Wang und M. Fingas. Rapid Separation of Nonionic Surfactants of Polyethoxylated Octylphenol and Determination of Ethylene-Oxide Oligomer Distribution by C1 Column Reversed-Phase Liquid-Chromatography. *Journal of Chromatography*, 637(2):145–156, 1993.
- [399] A. M. Warhurst. *An Environmental Assessment of Alkylphenol Ethoxylates and Alkylphenols*. Friends of the Earth, London / Edinburgh, 1995.
- [400] R. M. Weinheimer und P. T. Varineau. Polyoxyethylene Alkylphenols. In N. M. van Os (Hrsg.), *Nonionic Surfactants: Organic Chemistry*, Band 72 von *Surfactant Science Series*. Marcel Dekker, New York, 1998.
- [401] G. F. White. Bacterial Biodegradation of Ethoxylated Surfactants. *Pesticide Science*, 37(2):159–166, 1993.
- [402] R. Wickbold. Konzentrierung und Abtrennung von Tensiden aus Oberflächenwasser durch Transport in die Gas/Wasser-Grenzschicht. *Tenside*, 8(2):61–63, 1971.
- [403] S. I. Wie und B. D. Hammock. The use of enzyme-linked immunosorbent assays (elisa) for the determination of triton x nonionic detergents. *Analytical Biochemistry*, 125(1):168–176, 1982.

- [404] M. Willetts, V. A. Brown und M. R. Clench. Influence of Surface Carbon Coverage of C1 Trimethylsilyl Stationary Phases on the Separation of Nonylphenol Ethoxylate Ethoxymers. *Journal of Chromatography A*, 903(1–2):33–40, 2000.
- [405] Z. B. Wu, Z. Zhang, F. Chen, S P abd He, G. P. Fu und W. Liang. Nonylphenol and Octylphenol in Urban Eutrophic Lakes of the Subtropical China. *Fresenius Environmental Bulletin*, 16(3):227–234, 2007.
- [406] T. Yamagishi, S. Hashimoto, M. Kanai und A. Otsuki. Identification and Determination of Polyoxyethylene Non-Ionic Surfactants by HPLC-Atmospheric-Pressure-Chemical-Ionization MS, and Its Application to River Water Samples. *Bunseki Kagaku*, 46(7):537–547, 1997.
- [407] T. Yamagishi, S. Hashimoto und A. Otsuki. Tentative Identification of Persistent Poly(glycidyl)monofluorooctylphenyl Ether Nonionic Surfactant in River Waters and Effluent from a Secondary Wastewater Treatment Plant. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 17(4):670–674, 1998.
- [408] A. N. Yamane, M. Okada und R. Sudo. The Growth Inhibition of Planktonic Algae Due To Surfactants Used in Washing Agents. *Water Research*, 18(9):1101–1105, 1984.
- [409] G.-G. Ying, B. Williams und R. Kookana. Environmental Fate of Alkylphenols and Alkylphenol ethoxylates – a Review. *Environment International*, 28(3):215–226, 2002.
- [410] F. Ysambertt, W. Cabrera, N. Marquez und J. L. Salager. Analysis of Ethoxylated Nonylphenol Surfactants by High-Performance Size-Exclusion Chromatography (HPSEC). *Journal of Liquid Chromatography*, 18(6):1157–1171, 1995.
- [411] F. Ysambertt, F. Vejar, J. Paredes und J. L. Salager. The Absorbance Deviation Method: A Spectrophotometric Estimation of the Critical Micelle Concentration (CMC) of Ethoxylated Alkylphenol Surfactants. *Colloids and Surfaces A – Physicochemical and Engineering Aspects*, 137(1–3):189–196, 1998.
- [412] M. Zanette, A. Marcomini, S. Capri und A. Liberatori. Revision of the Regulatory Semispecific Methods for the Determination of Surfactants in Aqueous Samples. 1. Nonionic surfactants. *Annali di Chimica*, 85(5–6):201–220, 1995.
- [413] M. Zhao, F. van der Wielen und P. de Voogt. Optimization of a Matrix Solid-Phase Dispersion Method with Sequential Clean-Up for the Determination of Alkylphenol

- Ethoxylates in Biological Tissues. *Journal of Chromatography A*, 837(1–2):129–138, 1999.
- [414] C. Zhou, A. Bahr und G. Schwedt. Separation and Determination of Non-Ionic Surfactants of the Nonylphenol Polyglycol Ether Type by Liquid Chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 236:273–280, 1990.
- [415] J. K. Zhu und Z. Y. Shi. ESI-MS Studies of Polyether Surfactant Behaviors in Reversed-Phase HPLC System. *International Journal of Mass Spectrometry*, 226(3):369–378, 2003.
- [416] U. Zoller und M. Hushan. The Nonionic Surfactant Pollution Profile of Israel Mediterranean Sea Coastal Water. *Water Science & Technology*, 43(5):245–250, 2001.
- [417] U. Zoller und R. Romano. Determination of Non-Ionic Detergents in Municipal Waste Water. *Environment International*, 9(1):55–61, 1983.

Abbildungsverzeichnis

1.1	Tensidproduktion in Westeuropa	1
1.2	Anzahl in Deutschland zugelassener Pflanzenschutzmittel mit NPEO oder OPEO	3
2.1	Struktur von APEO am Beispiel von 4- <i>tert</i> -Octylphenoltetraethoxylat . . .	4
2.2	Nonylphenoldarstellung mittels Friedel-Crafts-Alkylierung	12
2.3	Pressindustria-Alkoxylierungsanlage	17
2.4	In Deutschland verwendete NPEO-Mengen	21
2.5	Formulierungstypen von Pflanzenschutzmitteln	25
2.6	Kontinentale NPEO-Emissionen in Europa	32
2.7	Vorgeschlagene biologische Abbaupfade von NPEO	35
5.1	Für die Extraktion von APEO aus wäßriger Phase nach der Methode von Wickbold verwendete Ausblaseapparatur	108
5.2	HPLC-Konfiguration zur On-Line-LC-LC-Kopplung	120
5.3	HPLC-Konfiguration zum automatisierten Rückspülen der Säulen	121
6.1	Ethoxymerenverteilung von NPEO vor und nach der Wickbold-Extraktion von PSM 3	136
6.2	Elutionsprofil von Marlophen NP 3 und Arkopal N 200 nach SPE an Kieselgel	139
6.3	Verluste von Arkopal N 200 nach SPE an Kieselgel bei mehrfacher Wieder- holung der Waschschrirte mit Dichlormethan / Cyclohexan 50:50 (<i>v/v</i>) und mit Dichlormethan	140
6.4	Wiederfindung von Arkopal N 200 nach SPE an Kieselgel mit steigendem Volumen und steigender Polarität des Elutionsmittels	141
6.5	Falsch positiver Befund nach Festphasenextraktion einer Rapsölmatrix auf- grund von Matrixbestandteilen, die mit OPEO koeluieren.	142
6.6	Blindwerte für verschiedene Matrices nach Festphasenextraktion.	143

6.7	Wiederfindung verschiedener APEO nach Festphasenextraktion aus einer aromatenhaltigen Lösemittel- und einer Pflanzenölmatrix.	144
6.8	Mittlere Abweichungen der ermittelten NPEO-Konzentrationen in unterschiedlichen Matrices von den Istwerten nach Festphasenextraktion.	144
6.9	Vergleich der bei einer UV-Detektion bei $\lambda = 227 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ mittels RPLC 1 ermittelten NPEO-Gehalte in den emulgierbaren Konzentraten nach Festphasenextraktion	146
6.10	Mittels der RPLC 1 und der RPLC 2 ermittelte Wiederfindungsraten von NPEO in dem aufgestockten Suspensionskonzentrat PSM 10A	149
6.11	Mittels der RPLC 1 ermittelte Wiederfindungsraten von OPEO in aufgestockten PSM und Waschmitteln.	150
6.12	Matrixstörung bei der Bestimmung von NPEO in dem ethanolischen Extrakt von PSM 6 bei der RPLC 1	152
6.13	Extraktionsverlauf der Fest-Flüssig-Extraktion von OPEO mit Acetonitril .	153
6.14	Störungen einer Öl-Matrix auf die Bestimmungen mittels RPLC 1 nach Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Acetonitril/Wasser // <i>n</i> -Hexan	155
6.15	Wiederfindung von NPEO in der wässrigen Phase nach Ausschütteln mit <i>n</i> -Hexan unter Verwendung unterschiedlicher Lösemittelanteile in der wässrigen Phase	157
6.16	Wiederfindung von NPEO in der wässrigen Phase nach Ausschütteln mit <i>n</i> -Hexan unter Verwendung unterschiedlicher Anteile an Salzen, Säuren und Saccharose in der wässrigen Phase	158
6.17	Abhängigkeit des nach Ausschütteln mit <i>n</i> -Hexan in Wasser / Essigsäure 70:30 (<i>v/v</i>) verbliebenen Anteils der APEO von der mittleren Molmasse . .	159
6.18	Mit Hilfe der Kalibrierlösungen von Marlophen NP 3, Marlophen NP 9 und Marlophen NP 15 in Wasser / Essigsäure 70:30 (<i>v/v</i>) ermittelte Kalibrierfunktionen für die NPEO-Bestimmung mittels RPLC 1 nach Flüssig-Flüssig-Extraktion mit <i>n</i> -Hexan	160
6.19	Zusammenhang zwischen dem Verteilungskoeffizienten der APEO zwischen der wässrigen Phase und der <i>n</i> -Hexanphase und ihrem mittleren Ethoxylierungsgrad	163
6.20	Mittlere Abweichungen der ermittelten NPEO-Konzentrationen in unterschiedlichen Matrices von den Istwerten nach Flüssig-Flüssig-Extraktion . .	166
6.21	Mittlere Abweichung der ermittelten NPEO-Konzentrationen von den Istwerten für die selber hergestellten PSM-Formulierungen nach Flüssig-Flüssig-Extraktion	167

6.22	Wiederfindungsraten verschiedener NPEO nach Einengen des Lösemittels bis zur Trockene	169
6.23	Massenanteile der einzelnen NPEO-Ethoxymere von Arkopal N 040 vor und nach dem Einengen des Lösemittels bis zur Trockene	170
6.24	Nachweis von 4-NP in NPEO mittels GC-MS	172
6.25	Identifikation von NP-Isomeren mittels GC-MS	173
6.26	Isolierung von NPEO-Ethoxymeren mittels Adsorptionschromatographie, Identifikation der NPEO-Ethoxymere mittels GC-MS und Zurodnung der NPEO-Ethoxymere in den Chromatogramme der NPLC-FLD	175
6.27	Charakteristische Ionen zum Nachweis von NP(EO) ₂ mittels GC-MS . . .	176
6.28	Identifikation der mit der Adsorptionschromatographie isolierten NPEO-Ethoxymere mit Hilfe der GC-MS	177
6.29	Isolierung von OPEO-Ethoxymere mittels Adsorptionschromatographie und Zuordnung der OPEO-Ethoxymere im Chromatogramm der NPLC-FLD	178
6.30	Identifizierung von OPEO-Ethoxymere mittels GC-MS am Beispiel von OP(EO) ₆	179
6.31	Isolierung der NPEO-Fraktion mittels RPLC	181
6.32	Beispiele zum Nachweis von APEO in PSM-Formulierungen mittels GC-MS	182
6.33	Flugzeitmassenspektrum von PSM 8	183
6.34	Nachweis von NPEO und Dodecanoethoxylat in PSM 3 mittels MALDI-ToF-MS	184
6.35	Absicherung des NPEO-Nachweises in PSM 6 mittels MALDI-ToF-MS durch Dotierung mit Natrium- und Kaliumionen	185
6.36	Absicherung des NPEO-Nachweises in PSM 4 und PSM 5 mittels MALDI-ToF-MS durch Dotierung mit Lithiumionen	186
6.37	Störungen der NPLC-FLD-Chromatogramme durch Matrixbestandteile. . .	187
6.38	Überprüfung potenzieller APEO-Fraktionen auf OPEO und NPEO mittels NPLC-FLD.	188
6.39	Diskriminierung von NPEO-Oligomeren bei der Fraktionierung mittels RPLC	189
6.40	Für die Ethoxymereentrennung von NPEO und OPEO mittels NPLC-FLD verwendete Gradientensysteme	190
6.41	Ethoxymereentrennung von Arkopal N 040 mittels NPLC-FLD mit verschiedenen Gradientensystemen	191
6.42	Ethoxymereentrennung von Arkopal N 100 mittels NPLC-FLD mit verschiedenen Gradientensystemen	192

6.43	Ethoxymymerentrennung von Arkopal N 200 mittels NPLC-FLD mit verschiedenen Gradientensystemen	193
6.44	Ethoxymymerentrennung von Arkopal O 257 mittels NPLC-FLD mit optimiertem Gradientensystem	194
6.45	Verschiebung der Retentionszeiten bei ungenügender Äquilibration der NPLC-FLD zwischen den Gradientenelutionen	195
6.46	NPLC-FLD-Chromatogramm des mit OP(EO) ₉ aufgestockten ethanolischen PSM 9-Extraktes	196
6.47	Ethoxymymerenverteilung der APEO in den unterschiedlichen PSM-Formulierungen	200
6.48	Mittels MALDI-ToF-MS aufgezeichnete Flugzeitmassenspektren von APEO-Tensiden.	201
6.49	Vergleich zwischen NPLC-FLD und MALDI-ToF-MS anhand der für zwei unterschiedliche NPEO-Tenside ermittelten Ethoxymymerenverteilungen . . .	204
6.50	Vergleich der Methoden zur Bestimmung der mittleren Molmasse: NPLC-FLD vs. MALDI-ToF-MS	206
6.51	Abhängigkeit der Auflösung zwischen OPEO, OP, NPEO und NP vom Wassergehalt der mobilen Phasen bei der RPLC	210
6.52	Trennung von OPEO, OP, NPEO und NP mittels RPLC bei optimierten chromatographischen Bedingungen	211
6.53	Abhängigkeit der APEO-Retentionszeiten von den Moleküleigenschaften .	211
6.54	Abhängigkeit des Retentionsverhaltens der APEO auf C18 vom Ethoxylierungsgrad, der Alkylgruppe und der Zusammensetzung der mobilen Phase	212
6.55	Abhängigkeit des Retentionsverhaltens der APEO auf C8 vom Ethoxylierungsgrad, der Alkylgruppe und der Zusammensetzung der mobilen Phase	214
6.56	UV-Absorptionsspektren von NPEO und OPEO	215
6.57	Nach RPLC-Trennung mit dem Diodenarraydetektor am Peakmaximum aufgezeichnete UV-Absorptionsspektren von NPEO- und OPEO-Tensiden mit unterschiedlichen Ethoxylierungsgraden	216
6.58	UV-Absorptionsspektrum von NPEO in Abhängigkeit von der Konzentration	218
6.59	Absorptionsmessungen bei $\lambda = 277 \text{ nm}$ an methanolischen Lösungen von NPEO, OPEO und NP	219
6.60	Zusammenhang zwischen Absorptivität und mittlerer Molmasse von APEO in ethanolischen Lösungen bei $\lambda = 277 \text{ nm}$	221
6.61	3D-Fluoreszenzspektrum des NPEO-Tensids Arkopal N 100	222

6.62	Anregungs- und Emissionsfluoreszenzspektren von verschiedenen NPEO-Tensiden, 4-NP, verschiedenen OPEO-Tensiden und 4- <i>tert</i> -OP in methanolischer Lösung	223
6.63	Zusammenhang des Quotienten aus der gemessenen Intensität der Fluoreszenzstrahlung und der Massenkonzentration mit der mittleren Molmasse von APEO in ethanolischen Lösungen bei $\lambda_{ex} = 277\text{ nm}$ und $\lambda_{em} = 300\text{ nm}$	224
6.64	Einfluss der mobilen und der stationären Phase sowie der Detektion auf die Selektivität der RPLC bei der Bestimmung von NPEO am Beispiel des Suspensionskonzentrates PSM 6	226
6.65	Auswahl der optimalen Wellenlänge zur Bestimmung von NPEO im emulgierbaren Konzentrat PSM 7 nach SPE	227
6.66	Aufklärung von Koelution durch Vergleich der bei unterschiedlichen Wellenlängen aufgezeichneten Chromatogramme	228
6.67	Vorteile der Verwendung von DAD und FLD bei der Bestimmung von NPEO in Lösungen von emulgierbaren Konzentraten	229
6.68	Mit unterschiedlichen Methoden ermittelte APEO-Konzentrationen in PSM-Lösungen und Extrakten	230
6.69	Kreuzvalidierung der beiden Methoden RPLC 1 (FLD, $\lambda_{ex} = 277\text{ nm}$, $\lambda_{em} = 300\text{ nm}$) und RPLC 2 (VWD, $\lambda = 277\text{ nm}$)	231
6.70	Abhängigkeit der relativen Retentionszeiten von der mittleren Molmasse der NPEO für eine C18-Phase und eine C8-Phase sowie eine C18-C8-Kopplung	232
6.71	Abhängigkeit der Retentionszeit von Marlophen NP 3 von der Polarität der mobilen Phase für eine C18-Phase und eine C8-Phase sowie eine C18-C8-Kopplung	233
6.72	C18-C8-Kopplung für die optimierte Trennung von NPEO mittels LC-LC in PSM 4 und PSM 5	235
6.73	C18-C8-Kopplung für die optimierte Trennung von NPEO mittels LC-LC in PSM 3 und PSM 6	236
6.74	LC-LC-UVD-Methodenvergleich: 277 nm vs. 227 nm	238
6.75	LC-LC-UVD-Methodenvergleich: 277 nm vs. 227 nm	239
6.76	Abweichung der mit Hilfe der Elementaranalyse in den untersuchten APEO-Tensiden bestimmten von den anhand des mittleren Ethoxylierungsgrades theoretisch zu erwartenden Kohlenstoff-, Sauerstoff- und Wasserstoffgehalten	240

6.77	Abhängigkeit der Empfindlichkeit der UV-Detektion bei $\lambda = 277\text{ nm}$ vom APEO-Typ bei einer Kalibration der RPLC-VWD auf Basis von Massenkonzentrationen	244
6.78	Kalibration der RPLC-VWD für eine Bestimmung von APEO mittels UV-Detektion bei $\lambda = 277\text{ nm}$ mit unterschiedlichen APEO-Standards auf Basis von Stoffmengenkonzentrationen	247
6.79	Kalibration der RPLC-VWD für eine Bestimmung von APEO im Bereich des 10-fachen bis 100-fachen der absoluten Nachweisgrenze der UV-Detektion bei $\lambda = 277\text{ nm}$ mit Kalibrierlösungen von Arkopal N 100	250
6.80	Überprüfung der Kalibrierstrategie	251
6.81	Wiederfindungsraten von APEO in Standardlösungen bei der Bestimmung mittels RPLC-FLD bei Verwendung unterschiedlicher APEO-Kalibrierstandards	253

Tabellenverzeichnis

2.1	Trübungspunkte wässriger OPEO-Lösungen	6
2.2	Abhängigkeit des Trübungspunktes vom NPEO-Ethoxyierungsgrad	7
2.3	Abhängigkeit der kritischen Mizellbildungskonzentration vom NPEO- Ethoxyierungsgrad	8
2.4	HLB-Werte für nichtionische Tenside	9
2.5	Produzenten von APEO	10
2.6	Ethoxyierung von Alkoholen und Alkylphenolen	16
2.7	Klassifizierung von Beistoffen in Pflanzenschutzmitteln	22
2.8	In Pflanzenschutzmitteln als Hilfsstoffe verwendete Tenside	24
2.9	Konzentrationsbereiche von NPEO und deren Metaboliten in Zu- und Ab- läufen von Kläranlagen	39
2.10	Umweltkonzentrationen von APEO und APEO-Metaboliten in verschiede- nen Flüssen Deutschlands	42
2.11	Berichtete Umweltkonzentrationen von APEO und APEO-Metaboliten der deutschen Nord- und Ostseeküste	49
5.1	Untersuchte synthetische Öle	99
5.2	Untersuchte pflanzliche Öle	99
5.3	Untersuchte Geschirrspülmittel und Reinigungsmittel	100
5.4	Untersuchte Waschmittelpulver	100
5.5	Verwendete Alkylphenole, Alkylphenolethoxylate und andere Tenside . . .	101
5.6	Verwendete Lösemittel	103
5.7	Sonstige verwendete Chemikalien	104
5.8	Verwendete Analysengeräte	105
5.9	Für die Herstellung von Kalibrier- und Referenzlösungen verwendete Geräte	106
5.10	Für die Probenvorbereitung verwendete Geräte	106
5.11	Bei den Versuchen zur SPE verwendete Lösemittelgemische	110

5.12	Durchgeführte Verfahrensschritte zur Festphasenextraktion von APEO . .	110
5.13	Chromatographische Parameter zur Isolierung einzelner APEO-Ethoxymere mittels Adsorptionschromatographie	113
5.14	Fraktionierung von Arkopal N 040 und Triton X-100 mittels Adsorptions-LC	113
5.15	Zusammensetzung der formulierten Pflanzenschutzmittel	115
5.16	Liste der verwendeten HPLC-Säulen	119
5.17	Messparameter zur Quantifizierung von APEO in unterschiedlichen Proben mittels isokratischer RPLC mit Methode RPLC 1	122
5.18	Messparameter zur Quantifizierung von APEO in unterschiedlichen Proben mittels isokratischer RPLC mit Methode RPLC 2	123
5.19	Messparameter zur Quantifizierung von APEO in unterschiedlichen Proben mittels LC-LC-Kopplung	124
5.20	Chromatographische Parameter zur Bestimmung der Ethoxymereverteilung von APEO mittels NPLC-FLD	125
5.21	Liste der verwendeten GC-Säulen	126
5.22	Messparameter zur Untersuchung der PSM-Formulierungen und der APEO mittels GC-MS (Methode GC-MS 1)	127
5.23	Messparameter der alternativen Methode zur Untersuchung von APEO mittels GC-MS (Methode GC-MS 2)	128
5.24	Zur Identifikation von AP und APEO mittels GC-MS verwendete Ionen . .	129
5.25	Messparameter für die Absorptionsmessungen mittels Zweistrahlsspektrophotometer	131
5.26	Messparameter für die Fluoreszenzmessungen und die Aufzeichnung von Anregungs- und Emissionsspektren	132
6.1	Untersuchung der durchgeführte Verfahrensschritte zur Festphasenextraktion von APEO mit Kieselgel anhand der Wiederfindung.	138
6.2	Analysenergebnisse für die bei einer UV-Detektion bei $\lambda = 227\text{ nm}$ und bei $\lambda = 277\text{ nm}$ mittels RPLC 1 ermittelten NPEO-Gehalte in den emulgierbaren Konzentraten nach Festphasenextraktion	145
6.3	Für die Wiederfindungsexperimente mit der Schüttelmethode verwendete aufgestockte Proben	147
6.4	Mittels RPLC 1 und RPLC 2 ermittelte APEO-Gehalte in den untersuchten wasserdispergierbaren Granulaten und Suspensionskonzentraten nach Extraktion der APEO mittels Fest-Flüssigextraktion unter Verwendung der Schüttelmethode und Ethanol als Extraktionsmittel	151

6.5	Korrekturfaktoren f_{c_0/c_W} für die Bestimmung des APEO-Gehaltes in PSM-Formulierungen mittels der RPLC 1-Methode nach Flüssig-Flüssig-Extraktion der Matrix von Lösungen der PSM in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) mit <i>n</i> -Hexan	164
6.6	In emulgierbaren Konzentraten mittels RPLC 1 bestimmte APEO-Gehalte nach Flüssig-Flüssig-Extraktion der Matrix von Lösungen der PSM in Wasser / Essigsäure 70:30 (v/v) mit <i>n</i> -Hexan	165
6.7	Mittels NPLC-FLD ermittelte Kenndaten der untersuchten APEO-Tenside	199
6.8	Mittels NPLC-FLD ermittelte Kenndaten der APEO in den untersuchten PSM	199
6.9	Mittels MALDI-ToF-MS ermittelte Kenndaten der untersuchten APEO-Tenside	203
6.10	Mittels GC-MS in den PSM-Formulierungen identifizierte Pestizide	207
6.11	Mittels LC-LC ermittelte NPEO-Konzentrationen in den emulgierbaren Konzentraten PSM 3, PSM 4, PSM 5 und dem Suspensionskonzentrat PSM 6237	
6.12	Relative Abweichungen der aus den mittleren Ethoxylierungsgraden berechneten von den mittels Elementaranalyse bestimmten Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalten der untersuchten APEO-Tenside	242
6.13	Ergebnisüberblick der PSM-Analysen für die emulgierbaren Konzentrate .	255
6.14	Ergebnisüberblick der PSM-Analysen für die wasserdispergierbaren Granulate und die Suspensionskonzentrate	256
A.1	Spezifikation der verwendeten Analysenwaage AE 240.	263
A.2	Spezifikation der verwendeten Kolbenhubpipetten vom Typ Reference [®] variabel.	264
A.3	Spezifikation der verwendeten Kolbenhubpipette vom Typ Research [®] variabel.	264
A.4	Spezifikation der verwendeten Kolbenhubpipette vom Typ Varipette [®] 4720.	264
A.5	Spezifikation der verwendeten Vollpipetten.	265
A.6	Spezifikation der verwendeten Meßkolben aus Glas.	265

Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name: Stefan Meisen
Geburtsdatum: 15. April 1971
Geburtsort: Krefeld
Familienstand: Ledig, keine Kinder

Berufliche Tätigkeiten

03/2003 – 03/2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Analytischen Chemie des Fachbereiches Chemie der Universität Duisburg-Essen am Campus Duisburg
01/2002 – 12/2002 Studentische Hilfskraft in der Instrumentellen Analytik des Instituts für Chemie der Gerhard-Mercator-Universität Duisburg
09/1998 – 09/2001 Nachhilfelehrer in Mathematik und Chemie der Sekundarstufe I/II beim Memory Schülertraining, Mülheim an der Ruhr
08/1991 – 04/1998 Werkstudent bei der Bayer AG, Krefeld

Ausbildung

seit 03/2003 Promotion im Fach Analytische Chemie des Fachbereiches Chemie der Universität Duisburg-Essen am Campus Duisburg
27. Februar 2003 Diplom Chemie
10/1998 – 02/2003 Diplom-Studiengang Chemie an der Universität Duisburg-Essen
09/1991 – 07/1998 Diplom-Studiengang Chemie an der Universität Dortmund

Wehrdienst und Schule

07/1990 – 06/1991 4. Fernmeldebataillon 110, Coesfeld
28. Mai 1990 Allgemeine Hochschulreife
09/1981 – 05/1990 Gymnasium am Stadtpark Uerdingen, Krefeld
08/1977 – 07/1981 Paul-Gerhardt-Grundschule, Krefeld

Auslandsaufenthalte

seit 01/2008	SAIA-Stipendiat in der Abteilung Chemie der Hüttenfakultät an der Technischen Universität von Košice, Slowakei
08/2008 – 10/2008	DAAD-Stipendiat in der Abteilung Chemie der Hüttenfakultät an der Technischen Universität von Košice, Slowakei
03/2002	Ausrichtung eines HPLC-Workshops am Border Technikon in East London, Südafrika

Gremientätigkeit

07/1999 – 05/2001	Mitglied des Fachbereichsrates im Fachbereich Chemie an der Gerhard-Mercator-Universität Duisburg
-------------------	---

Besondere Kenntnisse und zusätzliche Qualifikationen

Fremdsprache	Englisch, fließend in Wort und Schrift
EDV-Kenntnisse	Microsoft Office, Steuerungs- und Datenauswertungsprogramme, chemometrische und statistische Programme, Datenbanken, Qualitätssicherungssysteme und Laborinformationssysteme
10/2005 – 02/2006	Erfolgreiche Teilnahme an der Vorlesung und den Übungen „Quality Management and Quality Assurance“, Universität Duisburg-Essen
24. November 2005	Leco Praxisworkshop, Mönchengladbach
24. Oktober 2001	Thermo Hypersil Chromatographieseminar, Oberhausen
28. Mai 2001	Erfolgreiche Ablegung der Prüfung der umfassenden Sachkunde nach §5 der Chemikalien-Verbotsverordnung vom 14. Oktober 1993 (BGBl. I S. 1720)
Führerschein	Klasse 3

Liste der Veröffentlichungen

Artikel in Fachzeitschriften

S. Meisen, J. Wingender und U. Telgheder (2008): Analysis of microbial extracellular polysaccharides in biofilms by HPLC. Part I: development of the analytical method using two complementary stationary phases. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* **391** (3), 993–1002.

E. Denkhaus, S. Meisen, U. Telgheder und J. Wingender (2007): Chemical and physical methods for characterisation of biofilms. *Microchimica Acta* **158** (1–2), 1–27.

Kurzbeiträge und Artikel in Tagungsbänden

P. Rutarová, M. Gumpendobler, S. Meisen und A. Essing (2008): *Efficient Monitoring of Emerging Pollutants during Industrial Wastewater Treatment*. 5th IWA Leading-Edge Conference, Juni 2008, Zürich, Schweiz.

P. Rutarová, S. Meisen und K. Florian (2008): *Suitability Investigations of the DC-ARC AES for the Determination of Heavy Metals in Environmental Biofilms and Algae*. 5. ročník Študentskej vedeckej konferencie, Ekológia a environmentalistika, Mai 2008, Zvolen, Slowakei.

S. Meisen und K. Günther (2007): *Bestimmung von Alkylphenoethoxylaten (APEO) in Pestizidformulierungen mittels HPLC*. Anakon, März 2007, Jena.

S. Meisen, T. Tang und K. Günther (2007): *Bestimmung von östrogenaktiven Nonylphenolen in Biofilmen*. Anakon, März 2007, Jena.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbständig ohne fremde Hilfe verfasst zu haben und nur die angegebene Literatur und die angegebenen Hilfsmittel verwendet zu haben.

Stefan Meisen

30. Mai 2008